

Nina Gynther

OTSONIVESIKÄSITTELY  
VÄLIDESINFIOINTIAINEENA;  
ELINTARVIKKEEN JA PINTOJEN  
HYGIEENINEN LAATU

Opinnäytetyö  
Ympäristötekniologia


Maaliskuu 2010




**MIKKELIN AMMATTIKORKEAKOULU**

Mikkeli University of Applied Sciences

# KUVAILULEHTI

 <p><b>MIKKELIN AMMATTIKORKEAKOULU</b> Mikkeli University of Applied Sciences</p>		<b>Opinnäytetyön päivämäärä</b>  17.3.2010	
<b>Tekijä(t)</b>  Nina Gynther		<b>Koulutusohjelma ja suuntautuminen</b>  <b>Ympäristötekniikan koulutusohjelma</b> <b>Ympäristö- ja terveysvalvonta</b>	
<b>Nimeke</b>  Otsonivesikäsittely välidesinfiointiaineena; elintarvikkeen ja pintojen hygieeninen laatu			
<b>Tiivistelmä</b>  <p>Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, onko otsonivesikäsittelyllä vaikutusta lihavalmisteen mikrobiologiseen laatuun tuotetta pitkään säilytettäessä. Lisäksi haluttiin selvittää otsoniveden mikrobeja vähentävä vaikutus tuotantolaitteiden pinnoilta.</p> <p>Tutkimus tehtiin Järvi-Suomen Portti Osuuskunnan tuotantotiloissa Mikkelissä. Tutkimuksessa tuotenäytteenä käytettiin viipaloitua keittokinkkua. Otsonivesi valmistettiin Gjema Oy:n Steritrox otsonisaattorilla. Laite valmistaa otsonivettä paineilmaasta koronapurkaukseen perustuvalla tekniikalla.</p> <p>Tutkimuksessa käsiteltiin otsonivedellä viipalointilinjaston kriittisiksi kohdiksi valittuja alueita. Tämän jälkeen tuotteet viipaloitiin normaalisti. Lisäksi haluttiin tutkia, oliko pakkaukseen sumutetulla otsonivedellä mikrobien kasvua estävää vaikutusta. Näytteistä tutkittiin aerobien mikrobien kokonaismäärä, <i>Staphylococcus aureus</i> ja <i>Listeria monocytogenes</i>.</p> <p>Tuotenäytteissä ei kasvanut kypsytyksen jälkeistä kontaminaatiota kuvaavia bakteereja, <i>L. monocytogenes</i>- bakteereja tai <i>S. aureus</i>- bakteereja. Aerobien mikrobien kokonaismäärä ylitti lähes jokaisessa pitkään säilytetyssä tuotteessa tässä työssä käytetyn aerobien mikrobien raja-arvon. Tutkimusasetelman laadinnassa oltiin ylioptimistisia otsonin desinfioivaan vaikutukseen lihavalmisteisissa.</p> <p>Otsonivesikäsittelyn jälkeen otetuissa pintapuhtausnäytteissä oli vielä mikrobikasvua, mutta huomattavasti vähemmän kuin ennen käsittelyä. Kaikkien otettujen näytteiden keskimääräinen vähenemä oli 94 %, joka oli minuutin otsonivesikäsittelyn jälkeen erinomainen. Tulos vastasi kirjallisuudesta löydettyjä arvoja. Edellä mainittuun pintapuhtausnäytteiden tulokseen viitaten, otsonivesikäsittely vaikutti erittäin mielenkiintoiselta uudelta teknologialta pintojen desinfioinnissa.</p>			
<b>Asiasanat (avainsanat)</b>  Otsoni, otsonointi, lihavalmistus, elintarvikehygieniä, työturvallisuus			
<b>Sivumäärä</b> 49 s. + liite 1 (2 s.)	<b>Kieli</b> Suomi	<b>URN</b> 201058126	
<b>Huomautus (huomautukset liitteistä)</b>			
<b>Ohjaavan opettajan nimi</b>  Maritta Jokela		<b>Opinnäytetyön toimeksiantaja</b>  Järvi- Suomen Portti Osuuskunta	

## DESCRIPTION

 <p><b>MIKKELIN AMMATTIKORKEAKOULU</b> Mikkeli University of Applied Sciences</p>		<b>Date of the bachelor's thesis</b>  26.2.2010	
<b>Author(s)</b>  Nina Gynther		<b>Degree programme and option</b>  Environmental technology Environmental health and food supervision	
<b>Name of the bachelor's thesis</b>  Ozonated water as a sanitizer; the hygienic quality of foodstuff and surfaces			
<b>Abstract</b>  <p>The aim of the bachelor's thesis was to find out how effective ozonated water is as a sanitizer. The purpose was to indicate if there are any effects to the shelf life of the meat product. The second thing was to find out how effectively ozonated water kills microbes from the surfaces of the machines.</p> <p>The study was made at the plant of Järvi-Suomen Portti Osuuskunta in Mikkeli. Cooked ham was used as a sample in this study. Ozonated water was made by Steritrox ozonator. The machine was borrowed from Gjema Oy. It produces ozonated water from pneumatic air by using Corona discharge as a technique.</p> <p>In this research it was decided beforehand which are the three most critical areas in the ham slicer. Those areas were rinsed with ozonated water. After that cooked ham was sliced normally. It was also studied if there is any preventive effect when the ozonated water is sprayed into the package. The number of the aerobic microbes, <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> were examined from the samples.</p> <p>The growth of <i>Listeria monocytogenes</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> describes the contamination which has happened after cooking. There were no growths on those bacteria in the samples. The growth of the aerobic microbes was over the limit that was used. The reason might have been that the effect of the ozonated water as a sanitizer was overestimated.</p> <p>Microbial samples were taken from the surfaces before and after the surfaces were treated with ozonated water. The growth decreased 94% in all the samples that were taken after treatment. The result was excellent and it correlates to the results that were found from the literature. According to the results the ozonated water seemed to be a very interesting new technology and could be used as a sanitizer.</p>			
<b>Subject headings, (keywords)</b>  Ozone, ozonization, meat product, food hygiene, occupational safety			
<b>Pages</b> 49 p. + 1 appendix		<b>Language</b> Finnish	
		<b>URN</b> 201058126	
<b>Remarks, notes on appendices</b>  			
<b>Tutor</b>  Maritta Jokela		<b>Bachelor's thesis assigned by</b>  Järvi- Suomen Portti Osuuskunta	

# SISÄLTÖ

1	JOHDANTO .....	1
2	TYÖN TEORIAA .....	2
2.1	Otsoni .....	2
2.2	Otsonin syntyminen .....	3
2.3	Otsoni desinfiointiaineena .....	4
2.4	Otsonin käyttötutkimuksia .....	7
2.4.1	Liha ja lihavalmisteet .....	7
2.4.2	Pinnat .....	8
2.4.3	Muut elintarvikkeet .....	9
2.5	Työturvallisuus .....	10
2.5.1	Työhygieeniset arvot .....	10
2.5.2	Akuutti toksisuus .....	11
2.5.3	Krooninen toksisuus .....	11
2.6	Otsonin vaikutus luontoon .....	11
2.7	Lihavalmisteiden prosessointivaiheessa mikrobiologiseen laatuun vaikuttavia tekijöitä .....	12
2.7.1	Pastörointi .....	12
2.7.2	Jäähdytys ja kylmäketju .....	14
2.7.3	Muunnetun ilmakehän pakkaaminen .....	14
2.7.4	Työskentelyhygieniä .....	15
2.8	Tutkittavat parametrit .....	16
2.8.1	Aerobiset mikro-organismit .....	16
2.8.2	Staphylococcus aureus .....	17
2.8.3	Listeria monocytogenes .....	20
2.8.4	Aistinvarainen laatu .....	23
2.9	Mikrobiologisia ohjearvoja ja suosituksia .....	23
3	TUTKIMUKSEN TAVOITTEET .....	25
4	TYÖN SUORITUS .....	26
4.1	Otsonointi ja tuotenäytteiden tekeminen .....	26
4.2	Pintapuhtausnäytteet .....	32
4.3	Työhygieeniset mittaukset .....	34

5	TULOKSET.....	34
5.1	Säilyvyytutkimukset tuotteesta .....	34
5.2	Pintanäytteet ja olosuhdemittaukset .....	36
6	POHDINTA.....	38
7	JOHTOPÄÄTÖKSET .....	43
8	LÄHTEET .....	45

## LIITTEET:

Liite 1: Otsonigeneraattorin käyttöohje

## 1 JOHDANTO

Tämän työn tarkoituksena oli selvittää otsonivesikäsitteilyn vaikutusta lihavalmistajien mikrobiologiseen laatuun tuotteita pitkään säilytettäessä. Lisäksi työssä tutkittiin kuinka hyvin otsonivesi tappaa mikrobeja tuotantotilojen pinnoilta. Työn kokeellinen osio suoritettiin Järvi- Suomen Portti Osuuskunnan tuotantotiloissa Mikkelissä.

Koska otsoni on hyvin reaktiivinen aine, se valmistetaan aina käyttöpaikassa. Otsonivesi valmistettiin Gjema Oy:n Steritrox otsonisaattorilla. Laite valmistaa otsonivettä paineilma- ja koronapurkaukseen perustuvalla tekniikalla. Näyttemateriaalina käytettiin viipaloitua keittokinkkua. Kyseessä on tyypillinen suomalaisia täyslihavalmiste, joka sisältää vettä, suolaa, fosfaattia ja nitriittiä. Tuotetta ei ole savustettu ja sillä on korkea  $a_w$ -arvo. Tutkimuksessa käsiteltiin otsonivedellä viipaloitilinjaston kriittisiksi kohdiksi valittuja alueita. Tämän jälkeen tuotteet viipaloitiin normaalisti. Lisäksi haluttiin tutkia, oliko pakkaukseen sumutetulla otsonivedellä mikrobien kasvua estävää vaikutusta. Näytteistä tutkittiin aerobien mikrobien kokonaismäärä, *Staphylococcus aureus* ja *Listeria monocytogenes*. Sekä *Listeria monocytogenes* että *Staphylococcus aureus* kuvaavat käsitteilyn hygieenisyyttä kypsennyksen jälkeen. Tuloksia verrattiin normaaliin tuotteeseen. Lisäksi haluttiin tutkia pintapuhtausnäytteiden avulla, kuinka suuri mikrobien vähenemä saadaan nopealla otsonivesihuuhtelulla aikaiseksi.

Tutkimuksen kirjallisuussosiossa selvitettiin kirjallisuudesta muiden otsonivesitutkimusten vaikutusaikoja, otsoniveden pitoisuuksia ja desinfiointituloksia. Otsonille löytyi lukuisia elintarvikesovelluksia, sekä veteen liuotettuna että kaasuna. Varsinaisesti lihaan tai lihanjalostukseen liittyviä tutkimuksia oli vain muutamia. Kypsiä lihavalmistajien koskevia tutkimuksia ei löytynyt tämän työn selvitystyön aikana. Näistä kaikista tutkimuksista löytyi vain yksi suomalainen tutkimus. Lisäksi selvitettiin lihavalmistajien prosessointivaiheessa mikrobiologiseen laatuun vaikuttavia muita tekijöitä.

## 2 TYÖN TEORIAA

### 2.1 Otsoni

Otsoni ( $O_3$ ) on eräs hapen allotrooppisista muodoista. Yhdessä molekyylissä on kolme happiatomia. Se on väritön tai vaaleansininen, pistävän hajuinen ja myrkyllinen kaasu. Otsoni on voimakas hapetin (hapetuspotentiaali 2,07 V), tehokas desinfiointiaine sekä oikeissa olosuhteissa tehokas delignifointikemikaali ja valkaisuaine. Otsoni voidaan havaita tunnusomaisen hajunsa perusteella jo pienissä pitoisuuksissa (0,01- 0,05 mg/ l). [1, s.136.]

Tavallisessa lämpötilassa otsoni on sininen kaasu, joka tiivistyy  $-112,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa tummansiniseksi nesteeksi. Kun lämpötila laskee  $-249,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ :een, otsoni jähmettyy violettimustiksi kiteiksi. Otsonikaasun tiheys on 2,144 g/l, joka on 1,66 kertainen ilman tiheyteen verrattuna. Otsonin liukoisuus veteen normaaliolosuhteissa on noin 13 kertaa suurempi kuin hapen. [2, s.11.]

Otsoni on termisesti herkästi hajoava ja se hajoaa jo matalissakin lämpötiloissa nopeasti hapeksi, mikä lisää muiden aineiden syttymis- ja palovaaraa [2, s.12]. Otsoni on vaakaampi kaasumaisena kuin veteen liuotettuna [3, s.172–173]. Otsoni on veteen liukeneva. Liukenevuus riippuu useista eri tekijöistä, mutta tärkein tekijä on veden lämpötila. Otsonin liukenevuus kasvaa matalissa lämpötiloissa. Toinen tärkeä tekijä on liuoksen pH. Jos pH nousee, lisääntyy silloin otsonin hajoaminen hydroksyyli- eli superoksidiradikaaleiksi. [2, s.12.]

Otsoni suojelee tai vahingoittaa Maan eliöitä riippuen siitä, millä korkeudella sitä havaitaan. Korkealla keski-ilmakehässä stratosfäärissä "hyvä" otsoni toimii kilpenä suojaen maan kasvi- ja eläinkuntaa auringon ultraviolettia eli UV-säteiltä. Liiallinen ultraviolettisäteily lisää riskiä sairastua ihosyöpään tai silmäsairauksiin. Se voi myös heikentää ihmisten ja eläimien luontaista vastustuskykyä taudeille. [4]

Sen sijaan lähellä maanpintaa, hengitysilmassa, otsoni on saaste, joka suurina pitoisuuksina aiheuttaa vaurioita ihmisille, eläimille ja kasveille. Sitä on noin 10 % kaikesta ot-

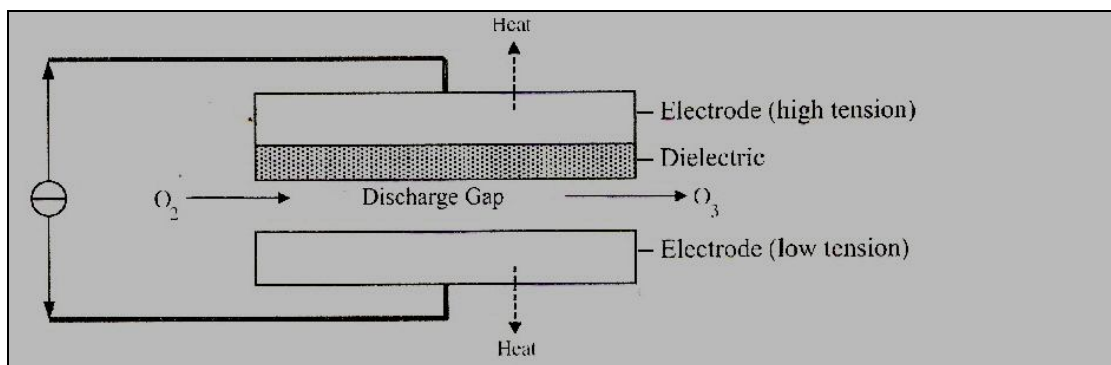
sonista, ja sitä muodostuu muun muassa autojen pakokaasupäästöjen seurauksena. Ukonilman jälkeen ilmassa voi tuntua pistävä tuoksahtus, saman "sähköisen" tuoksun saattaa joskus tuntea metrolla liikkuessa. Se on "pahaa" otsonia, joka suurina määrinä ärsyttää silmiä ja keuhkoja. Kesällä otsoni aiheuttaa savusumua eli smogia suurissa kaupungeissa. [4]

## 2.2 Otsonin syntyminen

Luontaisesti otsonia muodostuu ilmakehän yläosassa, stratosfäärin otsonikerroksessa, noin 10–50 km:n korkeudella maasta. Stratosfäärissä auringon ultraviolettisäteily luo ja tuhoaa otsonia. Kun UV-säteet kohtaavat happimolekyylin ( $O_2$ ), happimolekyyli jakautuu kahdeksi happiatomiksi ( $O$ ). Vapautunut happiatomi yhtyy molekylaariseen happeen muodostaen otsonimolekyylin ( $O_3$ ). Näitä stratosfäärissä tapahtuvia ultraviolettisäteilyn aiheuttamia otsonin syntymisen ja tuhoutumisen prosesseja kutsutaan Chapmanin reaktioiksi. [5] Otsonia syntyy myös salamoinnin ja kipinöinnin yhteydessä.

Teknisesti otsonia voidaan valmistaa sähköpurkausten avulla ilmasta tai hapestä otsoniputkella eli otsonisaattorilla [1, s.136]. Myös UV-säteilyn (188 nm) avulla voidaan valmistaa otsonia [6, s.453]. Otsonin luomisessa täytyy kaksiatominen happimolekyyli ensin jakaa. Tämä happiradikaali on vapaa reagoimaan toisen kaksiatomisen happiatomin kanssa, ja näin muodostuu kolmiatominen otsonimolekyyli. O-O sidoksen katkaisemiseen tarvitaan paljon energiaa. Ultraviolettisäteilyä (188 nm aallonpituus) ja koronapurkausta voidaan käyttää, jotta saadaan alulle vapaan happiradikaalin muodostuminen. [6, s. 455.] Kaupallisten otsonisaattorien toimintatapa perustuu yleisimmin koronapurkaukseen. Koronapurkauksessa syötetään kaasua kahden lähekkäin olevan elektrodin ohitse, ja purkaus tapahtuu, kun kaasu osittain ionisoituu [7, s.30.], kuten kuvassa yksi on kuvattu.





**KUVA 1. Koronapurkaus [6, s.455].**

### 2.3 Otsoni desinfiointiaineena

Otsonia on käytetty juomaveden desinfioinnissa jo vuosia Euroopassa. Otsonia käytettiin ensimmäisenä kaupallisesti jo vuonna 1907 kunnallisessa vedenkäsittelyssä Nizzas-  
sa ja vuonna 1910 Pietarissa. [6, s.454.] Otsonilla on monia muitakin kaupallisia käyttötarkoituksia, kuten esimerkiksi pullotetun veden desinfiointiaineena, uima-altaiden desinfiointiaineena, jäähdytystornien likaantumisen estoaineena ja jätevesien käsittelyssä. [6, s.453.]

Otsonia voidaan käyttää muihinkin tarkoituksiin kuin veden käsittelyyn. Ilmassa otsonia käytetään ilman haisevien yhdisteiden poistoon sekä desinfiointiin. Otsonin yksi tärkeä käyttökohde on valkaisu. Sen avulla voidaan valkaista muun muassa vahoja, öljyä, sellua ja tekstiilejä. Suomessa suurin otsonin käyttäjä on selluteollisuuden otsonivalkaisu. Muita otsonin käyttökohteita ovat peroksidien valmistus, erilaisten pintojen puhdistus ja aktivointi esimerkiksi ennen pinnan päällystystä sekä kumisten autonrenkaiden hajottaminen. Lisäksi otsonia käytetään typen oksidien mittaamiseen sekä virvoitusjuomien valmistamiseen elintarviketeollisuudessa. [2, s.9.]

Otsonin käyttö desinfiointiaineena elintarvikealalla on tullut hyväksytyksi vasta viime vuosina. USA:n Food and Drug Administration myönsi otsonille GRAS (Generally Recognized As Safe) statuksen vuonna 1997. [6, s.453.] Nykyään sen käyttö elintarvikealan desinfiointiaineena on hyväksytty USA:ssa ja Euroopassa [8, s. 12].

Otsoniveden mikrobien ja virusten kasvua estävää ominaisuutta on tutkittu laajasti [9, s.156]. Otsoni tehoaa useisiin bakteereihin, homeisiin ja hiivoihin, jopa pienessä pitoisuudessa (1-5 mg/ l) ja lyhyessä käyttöajassa (1-5 min.) [8, s. 12]. Otsoni tuhoaa mikro-organismit solun elintärkeiden osien asteittaisella hapetuksella. Solun pinta mainitaan hapetuksen ensisijaisena kohteena. Otsoni tuhoaa kohdeorganismin kahdella eri tavalla. Ensin otsoni hapettaa rikkihydroksyyliyhdytysryhmät ja entsyymien, peptidien ja proteiinien aminohapot lyhyemmiksi peptideiksi. Seuraavaksi otsoni hapettaa monitydyttymättömät rasvahapot peroksideiksi. Otsonin hajottaessa tyydyttymättömien lipidien solukalvot, se johtaa solun hajoamiseen ja myöhemmin solun sisällyksen vuotoon. Tyydyttymättömien lipidien kaksoissidokset ovat erittäin herkkiä otsonin vaikutukselle. [6, s. 456.] Joillakin bakteereilla on synnynnäinen kloori-resistenssi, kuten bakteerien itiöillä ja *Cryptosporidiumilla*. Otsonin toimintamekanismi tuhoaa solun seinämän, joten sille ei voi kehittyä mikrobiresistenssiä. [7, s.30.]

Otsoniveden on raportoitu tehokkaasti tappavan pilaajamikrobeja (*Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Zygosaccharomyces bailii*), ympäristö- ja ulosteperäisiä kontaminantteja (*Enterococcus faecalis* ja *Escherichia coli*) ja elintarvikeperäisiä patogeeneja (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocolitica* ja *Staphylococcus aureus*) matalissa otsonipitoisuuksissa. Lisäksi otsoniveden on tutkittu inaktivoivan monien virusten kasvua vedessä ja muissa kohteissa. [9, s. 156.]

Otsonin tehokkuus riippuu monista tekijöistä, kuten veden laadusta, lämpötilasta, pH:sta, vaikutusajasta ja desinfioitavasta tuotteesta itsestään. Esimerkiksi lämpötilan pudotus lisää otsonin liukenevuutta ja pysyvyyttä vedessä. [8, s. 49.] Otsoni on tehokkaampi mikrobeja vastaan, kun sovelletaan matalampaa (< 10 °C) lämpötilaa, kuin korkeita lämpötiloja. [3, s.178.] Otsonin tehokkuus mikrobeja vastaan ei riipu ainoastaan tuotteesta ja sen määrästä, vaan myös otsonijäämästä. Siksi olisi suositeltavaa mitata otsonin määrää vedessä tehokkaan desinfioinnin aikaansaamiseksi. [8, s. 49.] Otsonia tarvitaan enemmän, jos orgaanista ainesta on kilpailemassa mikrobien kanssa käytettävissä olevasta otsonista. [8, s.56.] Veden epäpuhtaudet saattavat reagoida otsonin kanssa ja kasvattavat vaadittavaa otsonin määrää. Lisäksi jotkut epäpuhtaudet saattavat panna alulle otsonin hajoamisen. [3, s.181.] Jäännösotsoni- nimikettä käytetään tutkimuksissa yleisesti. Sillä osoitetaan havaittavissa olevaa otsonin pitoisuutta käsiteltävällä

pinnalla sen jälkeen kun sillä on käsitelty käsiteltävä elintarvike. On todettu, että yksi suurimmista virheistä eri tutkimuksissa on, että niissä ei osata erottaa käytettävän otsonin pitoisuutta ja jäännösotsonin pitoisuutta, joka on välttämätöntä tehokkaalle desinfioinnille. [3, s.180.]

Otsoni on voimakkaasti korrosoiva aine. Otsonin korrosoiva vaikutus riippuu käytetystä pitoisuudesta. Korkeissa pitoisuuksissa se saattaa korrodoida laitteita, mutta niin korkeita pitoisuuksia ei juuri esiinny laitteissa, joissa otsoni syötetään veteen. Suurin osa materiaaleista kestää otsonia, kun käytetty pitoisuus on 1-3 mg/l. [7] Otsoni hapettaa kaikkia muita metalleja paitsi, kultaa, platinaa ja iridiumia. Elintarviketeollisuudessa käytetyt materiaalit ovat yleensä yhteensopivia otsonin kanssa matalissa otsonipitoisuuksissa. Ruostumaton teräs korrosoituu vähemmän otsonista kuin kloorista. [3, s.184.] Kuvassa 2 on mainittu eri materiaalien yhteensopivuus otsonin kanssa.

Material	Theoretical rating <sup>b</sup>
304 stainless steel	Good
316 stainless steel	Excellent
Aluminum	Good
Bronze	Good
Copper	Excellent
ABS plastic	Good
Acetal (Delrin)	Fair
CPVC	Excellent
EPDM	Excellent
Hypalon	Excellent
Hytrel	Fair
Kel-F	Excellent
LDPE	Fair
Polycarbonate	Excellent
Polypropylene	Good
PTFE (Teflon)	Excellent
PVC	Good
PVDF (Kynar)	Excellent
Silicone	Excellent
Viton	Excellent
Natural rubber	Severe effect
Neoprene	Fair
Nylon	Severe effect
Buna N (Nitrile)	Severe effect

**KUVA 2. Eri materiaalien yhteensopivuus otsonin kanssa [3, s.184].**

Otsoni reagoi voimakkaasti kaikkien orgaanisten aineiden kanssa, joten luonnonkumi orgaanisena materiaalina ei sovi kohteisiin, jossa käytetään otsonia. Jotkut synteettiset

kumit, kuten klorosulfonoitu polyeteeni ja etyleenipropyleni, kestävät erilaisia otsoni-olosuhteita. Muovimateriaalit, kuten teflon ja PVC, kestävät kuivaa ja kosteaa kaasumaista otsonia sekä myös otsonia sisältäviä vesiliuoksia. [1]

Mikrobien huomattava vähennys saavutetaan, kun otsonin pitoisuus on välillä 0,5–3,5 mg/ l, käytettynä joko kaasuna että vetenä. Tämä pitoisuus on hyvin siedetty elintarviketeollisuudessa käytetyissä muovi- ja teräspinnoissa ja -laitteissa. [7]

## **2.4 Otsonin käyttötutkimuksia**

Kirjallisuudesta löytyi useita tutkimuksia, joissa oli käytetty otsonia desinfiointina. Tutkimuksissa otsonia oli käytetty kaasuna, veteen liuotettuna tai UV-valoon yhdistettynä. Tähän kirjallisuusselvitykseen on kerätty vain tutkimukset, joissa käytettiin otsonia veteen liuotettuna.

Otsonia on testattu lähes jokaisella elintarvikesektorilla säilytyksen tai prosessoinnin aikana parantamaan tuoteturvallisuutta ja lisäämään näiden elintarvikkeiden myyntiaikaa [3, s. 170]. Elintarvikkeet, joita on käsitelty otsonilla, eivät sisällä desinfiointiainejäämiä. Koska otsoni on epästabiili kaasu, se hajoaa kahdessakymmenessä minuutissa hapeksi, eikä jätä jälkeäkään otsonidesinfioinnista tuotteeseen. [10, s.13.] Suomalaisia käyttötutkimuksia löytyi vain yksi. Tämä oli Särkkä-Tirkkosen & Leskisen (2008) vetämä EU- hanke QLIF, jossa jäävuorisalaatteja käsiteltiin otsonivedellä. [8]

### **2.4.1 Liha ja lihavalmisteet**

Otsonivesikäsitelystä löytyi useita raakoja tuotteita koskevia tutkimuksia. Varsinaisesti kypsiä lihavalmisteita koskevia tutkimuksia, jota tämä tutkimus käsitteli, ei löytynyt tämän tutkimustyön selvityksen aikana.

Kimin mukaan useita tutkimuksia on tehty otsonin tehokkuudesta ja turvallisuudesta, esimerkiksi huuhtelemalla siipikarjan ruhoja otsonivedellä tai puhdistamalla otsonilla siipikarjan ruhojen jäähdytysvettä tai desinfioimalla kasvattamon laitteita. [3, s. 193.] Hecerin tutkimuksessa oli selvitetty kahden antimikrobiologisen aineen, kloorin ja otsonin, vaikutusta broilerin ruhojen mikrobiologiseen laatuun. Tutkimuksessa broilerin

ruhojen päälle sumutettiin 7 minuutin ajan joko klooria (30 mg/ l) tai otsonivettä (1,5 mg/ l) suolien poiston aikana teurastamossa. Näytteitä otettiin kymmenen kertaa useista eri kohteista, muun muassa ruhon eri osista ennen ja jälkeen suolistuksen, henkilökunnan käsistä ja tilojen pinnoilta. Näytteistä tutkittiin bakteerien kokonaismäärä, *E.coli*, *Salmonella spp.* ja *Staphylococcus/Micrococcus*. Tutkimuksessa todettiin, että otsonivesikäsitteilyllä saatiin mikrobimäärää alenemaan enemmän kuin kloorilla, ja erityisesti *E.coli*- bakteeria ei näytteissä todettu käsittelyn jälkeen. Lisäksi tutkimuksessa todettiin, että otsonia voidaan käyttää desinfioinnissa pienemmällä pitoisuudella ja turvallisemmin kuin klooria. [11, s.131.]

Benlin tutkimuksessa selvitettiin luonnonsuoliin kohdistuvia mikrobiologiaa ja biomekaanisia vaikutuksia, kun niitä käsiteltiin otsonoidulla vedellä eripituisia aikoja (0,2 ja 4 h). Tutkimuksessa otsonivesi valmistettiin otsonivesigeneraattorilla. Otsonin pitoisuutena käytettiin ~7 mg/l. Mikrobiologisena indikaattorina tutkimuksessa käytettiin *E. coli*-bakteeria. Tutkimuksessa todettiin, että vaikutusajan on oltava vähintään kaksi tuntia, jotta saataisiin huomattavaa vähennystä mikrobien määrässä. Otsonin tehokkuus kuitenkin katoaa sen reagoidessa luonnonsuolessa oleviin orgaanisiin aineksiin. Toisaalta tutkimuksessa todettiin, että otsoniveden vaikutusajan pidentyessä luonnonsuolen laatu heikkenee ja se repeää helposti. [9, s.155.]

#### 2.4.2 Pinnat

National Sanitation Foundationin (NSF) järjestämässä tutkimuksessa pintoja käsiteltiin 1,85–2,25 mg/ l:n väkevyisellä otsonivedellä. Tutkimuksessa tähdättiin 99,999 %:n vähennykseen tutkittujen mikrobien osalta. Lyhyin desinfiointiaika oli *E. coli*- bakteerilla, joka oli 30 sekuntia ja vähenemä oli 5 log- yksikköä. Samoin *Pseudomonas aeruginosa*s väheni 99,999 %:a (6 log- yksikköä) 30 sekunnissa. Pisimmät vaikutusajat tutkituilla mikrobeilla oli *Listeria monocytogenes*- bakteerilla, joka väheni 4 log- yksikköä kolmessa minuutissa ja *Staphylococcus aureus*- bakteerilla 6 log- yksikköä viidessä minuutissa. [12, s.2.]

Pascualin mukaan otsonivedellä desinfioituilla pinnoilla mikrobivähennykset ovat huomattavia. Esimerkiksi 0,5 mg/ l:n pitoisuudella 10 minuutin käsittelyn aikana *Pseudomonas fluorescens* väheni 5,6 log:n verran. Tutkimus tehtiin meijerissä. Tutkimuksessa

pyrittiin poistamaan biofilmiä teräspinnalta otsoniveden avulla. Vastaavasti vähenemää oli saavutettu CIP- järjestelmässä, jossa 99 % mikrobeista väheni. Tutkitut mikrobit olivat *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ja *Candida albicans*. Toisessa tutkimuksessa käytettiin vahvempaa otsoniveden pitoisuutta, 3,0–3,5 mg/l:ää. Tällä vahvuudella saatiin seinistä, lattioista yms. jotka olivat jo aiemmin pestyjä, mikrobien määrää vähenemään 4 – 6 log- yksiköiden välillä. [7, s.32.]

Guzel- Seydimin mukaan oli otsonivettä testattu meijerin laitteiden esihuuhtelussa. Tutkimuksessa oli likaisia ruostumattomasta teräksestä valmistettuja osia esihuuhdeltu otsonivedellä. Tuloksia oli verrattu lämpöisellä vedellä esihuuhdeltuihin osiin. Otsoniveden eduksi, sen avulla oli poistunut 84 % epäpuhtauksia, kun taas lämpöisellä vedellä ainoastaan 51 %. Tällä kokeella osoitettiin se, että otsonivedellä esihuuhdellut osat tarvitsevat varsinaisessa pesutapahtumassa vähemmän puhdistusainetta kuin normaalisti verkostovedellä huuhdellut osat. [6, s.457–458.]

### 2.4.3 Muut elintarvikkeet

Erityisesti hedelmien ja marjojen käsittelystä otsonivedellä löytyi useita tutkimuksia. Parishin mukaan otsonivesikäsitteilyllä oli saatu jatkettua hedelmien myyntiaikaa. Tutkimuksessa oli saatu esimerkiksi appelsiinien mikrobimääriä pienennettyä sekä hidastettua niiden kypsymistä hapettamalla otsonilla etyleeniä. [13, s.168.] Kimin mukaan omenoiden käsittelyssä tehokkaampi tapa oli lisätä otsonia kuplivana veteen niiden huuhtelun aikana kuin upottaa omenat esiotsonoituun veteen. Tässä tutkimuksessa saatiin *E.coli O157:H7* vähenemään 2,6- 3,7 log yksikköä. Tutkimuksessa todettiin, että ongelmaksi voi muodostua omenien sisältämät epäpuhtaudet, jotka kuluttavat otsonia. [3, s. 195.]

Särkkä-Tirkkonen & Leskinen (2008) vertasivat natrium-hypokloriittiliuoksen, askorbiinihappo- sitruunahappoliuoksen ja otsoniveden vaikutusta jäävuorisalaattien mikrobiologiseen laatuun. Käytetyn otsoniveden pitoisuus oli 6,2 mg/l. Tutkimuksen mukaan salaattit upotettiin tutkittavaan liuokseen 40 sekunnin ajaksi, sentrifugoitiin ja pakattiin. Tuotteita säilytettiin +5 °C:ssa. Näytteistä tutkittiin yhden, kuuden ja kymmenen päivän kuluttua aerobien mikrobien kokonaismäärä, koliformit ja enterobakteerit. Tulosten

mukaan otsonivedellä huuhdelluissa tuotteissa kasvoi keskimäärin vähiten tutkittuja mikrobeja. [8]

## 2.5 Työturvallisuus

Otsonin myrkyllisyys on tärkein kriteeri hyväksyttäessä otsonia elintarvikelaitokseen. On erittäin tärkeää valvoa sellaisten henkilöiden työturvallisuutta, jotka ovat tekemissä otsonin kanssa. [14, s. 476.] Otsoni on voimakas hapetin ja reagoi kiivaasti palavien ja pelkistävien aineiden kanssa. Lisäksi otsoni hajoaa lämmitessään, jolloin muodostuu happea, mikä lisää palovaaraa.[15] Otsonin valmistus tapahtuu työpaikalla otsonigeneraattorilla, sillä otsonia ei voida varastoida, eikä kuljettaa sen hajoavuuden vuoksi. Tämän vuoksi sen käyttö on toisaalta turvallisempaa, kuin esimerkiksi kloorin, jota joudutaan kuljettamaan sekä varastoimaan. [2, s.8.]

### 2.5.1 Työhygieeniset arvot

Otsoni vaikuttaa silmien, nenän ja alempien hengitysteiden limakalvoihin. Oireina ovat tavallisesti pistävä tai polttava tunne kurkussa, yskä ja kipu rinnassa tai vinkuva hengitys. Otsonin haitallisuus johtuu sen reaktioista solukalvojen ja solujen sisällä olevien rasvaosien kanssa. [1, s.138.] Otsonin työhygieeniset raja-arvot ovat Suomessa HTP: 0,05 mg/ l / 8 h ja http: 0,2 mg/ l/ 15 min., kuten taulukossa yksi on esitetty. [15] Kun otsoni reagoi orgaanisen aineksen kanssa, hajoamisen lopputuotteita ovat aldehydejä, ketoneja tai karboksyylihappoja. Nämä eivät aiheuta terveysongelmia. [7, s.30.]

#### TAULUKKO 1. Otsonin työhygieeniset raja-arvot [15].

TLV (raskas työ):	0,05 mg/ l (TWA) A4 (ei luokiteltavissa ihmiselle syöpää aiheuttavaksi aineeksi)
TLV (keskiraskas työ):	0,08 mg/ l (TWA) (A4)
TLV (kevyt työ):	0,10 mg/ l (TWA) (A4)
TLV (kaikki työt, kesto < 2 h):	0,20 mg/ l (TWA) (A4)
<b>HTP:</b>	<b>0,05 mg/ l; 0,1 mg/m<sup>3</sup> (8 h)</b>
<b>HTP:</b>	<b>0,2 mg/ l; 0,4 mg/m<sup>3</sup> (15 min)</b>
MAK:	syöpävaarallisuusluokka: 3B

### 2.5.2 Akuutti toksisuus

Otsonin aiheuttamia akuutteja terveysvaikutuksia esiintyy yleensä vain onnettomuustilanteissa, jolloin saavutetaan nopeasti korkeita ilman otsonipitoisuuksia. Muutaman minuutin altistuminen noin 100 mg/ l:n otsonipitoisuudelle aiheuttaa hengitysshokin, jonka oireet häviävät muutaman tunnin kuluttua altistuksen päätyttyä. Jos altistus jatkuu pidempään, on seurauksena keuhkopöhö. Oireina ovat mm. kuiva yskä, hengenahdistus, hengityksen vinkuminen, pahoinvointi, oksentelu sekä mahdollisesti kuume. [2] Ensimmäisenä otsonialtistukseen on yleensä tilasta poistuminen, raitis ilma ja puoli-istuva asento. Jos otsonialtistus on aiheuttanut iholle paleltuman tai silmäkosketuksen, on potilas toimitettava lääkäriin. [15]

### 2.5.3 Krooninen toksisuus

Matalat, 0,05- 0,5 mg/ l:n otsonipitoisuudet aiheuttavat kroonisia terveysvaikutuksia. Otsoni aiheuttaa alle yhden mg/ l:n pitoisuuksilla päänsärkyä, rintakipua, yskää, muutoksia keuhkojen toiminnassa ja silmien sekä nenän ja nielun ärsytystä. Lisäksi jatkuva otsonialtistuminen aiheuttaa pysyviä hengitystiesairauksia, kuten astmaa. [2]

## 2.6 Otsonin vaikutus luontoon

Otsoni on maanpinnalla yksi ympäristön tavallisimmista epäpuhtauksista. Otsoni kuitenkin poikkeaa monista muista ilmansaasteista siinä, että jo vähänkin kohonneet pitoisuudet saattavat olla vahingollisia. Otsonia muodostuu ilmakehän alaosassa luonnon ja ihmisten ilmaan päästämien typen oksidien ja hiilivetyjen välisissä reaktioissa. Hiilivetyjä ja typen oksideja tulee muun muassa autojen pakokaasuista ja teollisuuden päästöistä. [2, s.10.]

Tutkimusten mukaan otsoni on ympäristöystävällinen desinfiointiaine. Kemiallinen hapenkulutus (COD) ja biologinen hapenkulutus (BOD) voivat pienentyä huomattavasti, jos elintarvikkeiden puhdistus- ja prosessivesiä käsitellään otsonilla. Lisäksi otsoni hajoo nopeasti hapeksi, eikä siitä jää myrkyllisiä jäämiä jäteveteen. [3, s.170.]



Puhdistaminen ja desinfiointi ovat välttämättömiä asioita elintarviketeollisuudelle, jotta saadaan ylläpidettyä tuotanto-tilat hygieenisinä. Kuitenkin suuri veden ja energian käyttö ja jäteveden tuottaminen ovat merkittäviä ympäristövaikutuksia. Jätevesi saattaa sisältää liuennutta orgaanista materiaalia, pesuainejäämiä tai niiden reaktiotuotteita. Lisäksi pH voi olla korkea tai matala, riippuen onko käytetty emäksisiä tai happamia pesuaineita. [7, s.31.] Otsonin käyttäminen ei jätä jäteveteen jäämiä. Lisäksi se säästää vettä, koska se toimii nopeammin kuin perinteiset desinfiointimenetelmät. Koska pinnoille ei jää jäämiä, ei lopullista huuhtelua tarvita. [7, s. 33.]

Espanjalainen teknologiakeskus *Ainia* on Ozone CIP- projektin vetäjä, joka sai EU-rahoituksen projektilleen (LIFE 05 ENV/E/000251). Tässä projektissa ei pelkästään arvioitu otsonin käyttöä vahvana desinfiointiaineena pinnoille, vaan myös analysoitiin otsonin ympäristöhyötyjä, sekä sen mahdollista määritelmää Best Available Tecnology (BAT) puhdistukselle ja desinfioinnille elintarviketeollisuudessa. [7, s.29.]

## **2.7 Lihavalmisteiden prosessointivaiheessa mikrobiologiseen laatuun vaikuttavia tekijöitä**

Lihavalmisteiden mikrobiologiseen laatuun vaikuttavia tekijöitä on useita. Ensimmäinen tärkeä tekijä on raaka-aineiden laatu vastaanottotarkastuksessa. Vastaanottotarkastuksessa varmistutaan raaka-aineiden spesifikaation mukaisuudesta ennen prosessoinnin aloittamista. Teollisuudessa on yleisesti käytössä laatusopimukset valmistajien ja raaka-ainetoimittajien kesken. Tällä menettelyllä voidaan turvata tasainen raaka-aineen laatu ja kumpikin osapuoli tietää, mitkä sovitut laatukriteerit ovat. Raaka-aineiden vastaanottotarkastukseen kuuluu lähes aina mahdollisten analyysien lisäksi aistinvarainen arviointi. Helposti pilaantuvat elintarvikkeet menevät yleensä välittömästi käyttöön. Niiden hyväksyminen ja hylkäys tapahtuukin pelkästään aistinvaraisen arvioinnin perusteella. [16, s.178.]

### **2.7.1 Pastörointi**

Mikrobit tarvitsevat elääkseen ravinteita, vettä, lämpöä, optimaalista happamuutta ja optimaalista hapen määrää. Mikrobien tuhoaminen tai niiden lisääntymisen estäminen elintarvikkeissa perustuu näiden kasvutekijöiden käyttöön. [17, s.42.] Elintarvikkeiden

käsittely- ja säilytyslämpötiloja säätelemällä voidaan hyvin tehokkaasti tuhota suurin osa raaka-aineissa esiintyvistä vegetatiivisista bakteereista ja estää henkiin jääneiden bakteerien lisääntymistä. [18, s. 299.] Bakteerien kasvu hidastuu, jos yksikin edellä mainittu kasvutekijä poikkeaa optimiarvosta. Kun yhdistetään useita bakteereille epäsuotuisia tekijöitä, bakteerien kasvu saadaan tehokkaammin estetyksi. Tätä kutsutaan Hurdle-efektiksi. [18, s.189.] Jotta mikrobit pystyisivät kasvamaan, niiden tulee päästä näiden sarjassa olevien esteiden yli [19, s.53].

Paras keino tuhota mikrobit on kuumentaminen. Kuumentaminen tappaa lähes kaikki mikrobit. Lisäksi se kuivaa elintarviketta niin, että vapaan veden määrä vähenee. [17, s.47.] Kuumennus aiheuttaa vegetatiivisoluissa nukleiinihappojen denaturaatiota, joka lienee merkittävin korkean lämpötilan aiheuttama letaali muutos bakteerisoluihin. [18, s.300.]

Mikrobien tuhoutuminen riippuu suuresti lämpötilasta ja kuumennusajasta. Näistä lämpötilan nousulla tai laskulla on kuitenkin huomattavasti suurempi vaikutus bakteeripopulaation tuhoutumiseen kuin kuumennusajan pidentämisellä tai lyhentämisellä vakio- lämpötilassa. [18, s.308.] Useimmat vegetatiiviset pilaaja- ja patogeenibakteerit tuhoutuvat  $+60 - +70\text{ °C}$ :n lämpötilassa [18, s.299]. Riittävän pastörintitehon saavuttamiseksi on makkaran sisälämpötilan oltava vähintään  $+72\text{ °C}$ :tta useiden minuuttien ajan. Bakteeri-itiöt eivät kuitenkaan tuhoudu tässä lämpötilassa ja siksi makkarat on jäähdytettävä nopeasti alle  $+10\text{ °C}$ :een. [20, s.100.]

Esimerkiksi *Listeria monocytogenes* tuhoamiseen tarvittavat aika/ lämpötilayhdistelmät ovat  $+70\text{ °C}/ 2\text{ min}$  tai  $+75\text{ °C}/ 30\text{ s}$ . Tällä yhdistelmällä saadaan tuhottua 90 % (=6D vähenemä) populaatiosta. Vaihteluja esiintyy eri kantojen kesken sekä eri elintarvikkeiden kesken. [21, s.633.]

Kypsytyslämpötilojen raja-arvoista ei varsinaisesti säädetä lainsäädännössä. Tuotteiden loppulämpötilat kypsytyksen päättyessä perustuvat yleensä HACCP:n vaaran arviointiin. Elintarvikeeturvallisuusvirasto kuitenkin suosittelee, että liha kypsennettäisiin kultaaltaan vähintään  $+70\text{ °C}$ :een. Lisäksi suositukseksi on, että siipikarjanlihaa sisältävät tuotteet tulee kypsennää täysin kypsäksi, jotta mahdolliset salmonella bakteerit kuole-

vat. Siipikarjanlihaa sisältävän tuotteen sisälämpötilan on oltava +75 °C kypsennyksen päättyessä. [22]

### 2.7.2 Jäähdytys ja kylmäketju

Kypsennyksen jälkeen on lihavalmisteet välittömästi siirrettävä jäähdytykseen. Tavoitteet ovat sekä hygieeniset että teknologistaloudelliset: säilyvyyden parantaminen ja painotappioiden estäminen. Säilyvyyden kannalta on tärkeää, että makkaroiden sisälämpötila laskee mahdollisimman pian alle +10 °C:een. Jäähdytys tehdään koneellisesti kylmän veden ja kylmän ilman avulla. [20, s.99.]

Kylmäketjusta onkin tullut keskeisin mikrobien kasvua estävä tekijä. Alhaisessa lämpötilassa mikrobien reaktiot hidastuvat, jolloin myös niiden kasvu hidastuu. Kylmäsäilytettävät tuotteet ovat yleensä pastöroituja ja tyhjiö- tai suojakaasupakkaukseen pakattuja mikrobien kasvun hidastamiseksi. Kylmäsäilytettävissä tuotteissa merkittävin pilaaja- ja patogeenibakteeriryhmä ovat psykrotrofiset eli kylmää sietävät bakteerit, kuten *Listeria monocytogenes*. [18, s.309.] Esimerkiksi *Listeria monocytogenes*- bakteerin kasvun eteneminen kylmäsäilytyksen aikana elintarvikkeessa on seuraava. Kun lämpötila on 0-+1 °C:tta, kestää noin 3-33 vuorokautta ennen kuin kasvu alkaa, ja generaatioaika, jossa elävien solujen määrä kaksinkertaistuu, on 62- 131 tuntia. Jos lämpötila säilytyksessä nousee 5-6 °C:een, lyhenee kasvun alkaminen 1-3 vuorokauteen. Generaatioaika on 4-5 °C:een lämpötilassa enää 13–25 tuntia. [21, s.634.]

Maa- ja metsätalousministeriön asetus eläimistä saatavien elintarvikkeiden elintarvikehygieniasta (37/EEO/2006) määrää, että lihavalmisteet on jäähdytettävä +10 °C:n lämpötilaan tai kylmemmäksi mahdollisimman nopeasti, kuitenkin viimeistään kahden tunnin kuluessa kuumentamisesta, ja varastointilämpötilaan mahdollisimman nopeasti. [23, s.29.]

### 2.7.3 Muunnetun ilmakehän pakkaaminen

Normaali ilman koostumus on otollinen monien pilaaja- ja ruokamyrkytysbakteerien kasvulle. Muunnetun ilmakehän pakkaamisessa elintarvikkeen säilyvyyttä ja turvallisuutta pyritään parantamaan pakkauksen kaasukoostumusta muuttamalla. [18, s.338.]

Kypsissä lihavalmisteissa käytetään Suomessa yleisesti vähähappista kaasuseosta. Kaasuseoksessa on yleensä noin 20–30 % hiilidioksidia ja 70–80 % typpeä. Happi edistää aerobisten pilaajien ja patogeenien kasvua, joten sen osuus halutaan saada mahdollisimman pieneksi eli alle yhteen prosenttiin. [18, s.339.]

Hiilidioksidi ( $\text{CO}_2$ ) estää bakteerien kasvua ja pidentää niiden lepovaihetta ja kasvuaikaa. Hiilidioksidin käytöllä pakkauksen kaasuseoksessa pyritään ehkäisemään aerobisten gram- negatiivisten bakteerien kasvua tuotteessa. Hiilidioksidin estovaikutus vähenee nopeasti ja huomattavasti, kun lämpötila nousee, joten kylmäketjun katkeamattomuus ja riittävän alhainen säilytyslämpötila ovat ehdottoman tärkeitä halutun vaikutuksen saamiseksi. Hiilidioksidi ei paranna huonolaatuista elintarviketta, vaan ainoastaan pidentää laadukkaan elintarvikkeen säilyvyyttä. [18, s.339.] Hiilidioksidin mikrobien kasvua estävä vaikutus perustuu solun aineenvaihduntaan. Hiilidioksidi on solun aineenvaihdunnan lopputuote. Aineenvaihdunnan normaali toiminta edellyttää, että hiilidioksidi poistuu solulimasta diffuutoitumalla ulos. Mutta jos solun ulkopuolella, eli pakkauksessa on hiilidioksidin pitoisuus suurempi kuin solun sisällä, diffuusio ulospäin on mahdotonta ja solun energia-aineenvaihdunta pysähtyy. [21, s.675.]

Elintarvikkeen pakkaaminen muunnettuun kaasuilmatilaan voi hidastaa *Listeria monocytogenes*- bakteerin lisääntymistä ja saattaa jopa estää kasvun. Kasvua on kuitenkin todettu niin anaerobi- kuin typpikaasupakkauksissakin. Hiilidioksidin lisäämisellä on todettu kasvua hidastavaa vaikutusta. Hiilidioksidipitoisuus 80–100 % voi estää mikrobien kasvun täysin. [21, s.634.]

#### 2.7.4 Työskentelyhygienia

Tuotteiden mikrobiologiseen laatuun vaikuttaa myös erittäin paljon henkilöstön työskentelyhygienia sekä työskentelytilojen puhtaustaso. Puhdas työympäristö on perusedellytys sille, että elintarvikkeita voidaan käsitellä ja valmistaa oikein. Hyvälaatuisista raaka-aineista saadaan puhtaita ja turvallisia elintarvikkeita, kun niitä käsitellään oikein. [24]

Puhtaaseen käsittelyyn kuuluvat oikeat työmenetelmät puhtaissa työtiloissa, puhtailla laitteilla ja välineillä, sekä puhtaat työtavat ja hyvä henkilökohtainen hygienia. Myös henkilöiden, jotka eivät osallistu elintarviketuotantoon, mutta tekevät työtään samoissa tiloissa, esimerkiksi puhtaanapidon ja kunnossapidon henkilöiden, on tärkeää noudattaa näitä periaatteita hyvän hygienian noudattamisesta. Hyviä toimintatapoja on noudatettava kaikissa elintarvikkeisiin liittyvissä töissä, myös esimerkiksi kuljetuksissa. [24]

Henkilökunnalla on oltava riittävästi tietoa hygieniasta ja hygieenisestä työskentelystä, kuten käsien pesusta ja pukeutumisesta, mikrobien aiheuttamista haitoista, mikrobien pääsyreiteistä elintarviketuotantoon, mikrobien lisääntymisnopeudesta ja niiden tuhoamismenetelmistä. [18, s.372.] Hygieenisesti kriittisissä työvaiheissa työskentelevät tarvitsevat enemmän tietoa ja koulutusta kuin vähemmän kriittisissä pisteissä työskentelevät. Tyypillisiä kriittisiä työvaiheita ovat kypsentaminen, jäähdyttäminen ja pakkaaminen. Kypsiä tuotteita käsiteltäessä erityisesti ristikontaminaatiokäsittelyn ymmärtäminen on tärkeää. Pakkaukseen menevä tuote vie pakkaukseen mukanaan myös pinnan mikrobit ja tuotetta koskeneen työntekijän kädessä olevia siirtymiskykyisiä bakteereja. [18, s.373.] Henkilökunta voi kantaa useita ruokamyrkytyksiä aiheuttavia mikrobeja, jolloin hyvällä käsihygienialla ja oikeilla työtavoilla voidaan estää mikrobien siirtyminen henkilökunnasta elintarvikkeisiin. [18, s.374.] Tuotteita käsiteltäessä tulee käyttää kertakäyttökäsineitä, jotka pitää vaihtaa uusiin, jos niillä on välillä siirrelty lavoja tai muita pakkausalustoja [20, s.161].

## 2.8 Tutkittavat parametrit

Kokeellisen osion tutkittaviksi parametreiksi valittiin aerobiset mikro-organismit, *Staphylococcus aureus* ja *Listeria monocytogenes*. Näihin mikrobeihin päädyttiin kirjallisuutta tutkimalla. Nämä mikrobit kuvaavat lihavalmisteen käsittelyhygieniaa ja pintojen puhtautta. *Listeria monocytogenes* kuvaa erityisesti ristikontaminaatiota raaka-aineiden ja kypsien tuotteiden välillä ja *Staphylococcus aureus* kuvaa henkilöstön hygieniakäyttäytymistä.

### 2.8.1 Aerobiset mikro-organismit

Aerobisten mikro-organismien eli kokonaisbakteerien määrä kuvaa elintarvikkeen mikrobiologista yleislaatua eli näytteessä olevien bakteerien, homeiden ja hiivojen kokonaismäärää. Aerobisten mikro-organismien määrä kypsissä elintarvikkeissa voi nousta, mikäli elintarvike on vanhentunut tai sitä säilytetään virheellisissä lämpötiloissa. Myös valmistus ja käsittelyhygieniat voivat vaikuttaa elintarvikkeiden kokonaisbakteerimäärään. [25, s.3.] Kokonaisbakteerien joukossa voi olla pilaajamikrobeja ja sairauden aiheuttajia. Pilaajamikrobit voivat pilata elintarvikkeen aistinvaraisesti aistittavaa laatua ja huonontavat tuotteen säilyvyyttä. [26, s.4.]

### 2.8.2 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus*- bakteeri kuvaa erityisesti henkilöstön käsittelyhygieniaa. Bakteeri esiintyy yleensä oireettomien ihmisten iholla ja limakalvoilla, 15 %:lla käsissä ja 40 %:lla nielussa. Useimmiten stafylokokin löytää kuitenkin nenästä. Lisäksi se kuuluu ihmisten ulosteen normaaliflooraan. [27, s. 21.]

*Staphylococcus aureus*- bakteeri on gram- positiivinen fakultatiivisesti anaerobinen kokkibakteeri. Se aiheuttaa ruokamyrkytyksiä erittämiensä myrkkyjen eli toksiinien välityksellä. Bakteeri on yleinen terveiden ihmisten ja eläinten iholla, nenässä ja nielussa. [27, s.21.] *Staphylococcus aureus*- bakteeri kuuluu ns. koagulaasi- positiivisiin stafylokokkeihin. Se voidaan faagityypityksellä jakaa lukuisiin alatyyppeihin. Vain tietyt faagityypit aiheuttavat ruokamyrkytyksen lisääntyään elintarvikkeessa ja muodostettuaan siihen enterotoksiinia. Elintarvikkeista eristetyistä kannoista 10–50 % erittää enterotoksiinia. [28, s.13.]

Ruokamyrkytyksiä aiheuttavat stafylokokit ovat yleensä peräisin elintarvikkeita käsittelevistä ihmisistä, harvemmin eläimistä. Stafylokokkimyrkytys johtuu useimmiten siitä, että bakteeri tarttuu elintarvikkeisiin niiden käsittelijästä kosketuksen välityksellä. [27, s.22.] Kontaminaatio voi syntyä esimerkiksi yskimisen ja aivastamisen vuoksi. Huono käsittelyhygieniat on merkittävä elintarvikkeiden käsittelyvirhe [18, s.64]. Stafylokokki-ruokamyrkytysten yleisyys Suomessa on laskenut parin vuosikymmenen aikana. [27, s.22.] Vuosina 1975–1994 *S.aureus* aiheutti 22 % raportoiduista ruokamyrkytys-epidemioista, vuosina 1995–1999 se aiheutti ainoastaan 3 % epidemioista ja tällä hetkellä 1–4 epidemiaa vuosittain [29, s.86]. Kuitenkin esimerkiksi Yhdysvalloissa se on edelleen

toiseksi yleisin ruokamyrkytysten aiheuttaja, mikä johtuu teollisesti valmistettujen elintarvikkeiden runsaasta käytöstä [27, s.22].

*Staphylococcus aureus*- bakteeri lisääntyy ruoassa erittäen siihen myrkkyä, enterotoksiinia. Toksiinit eivät vaikuta suoliston soluihin vaan suolistossa oleviin hermoresptoreihin, jolloin hermoärsytyksen kautta aivojen oksennuskeskus stimuloituu ja aiheuttaa oksentelua. Tästä syystä stafylokokkitoksiini on itse asiassa hermomyrkky eli neurotoksiini. [27, s.22.] Infektiivinen annos  $< 1 \mu\text{g}$  toksiinia aiheuttaa oireita, tällöin bakteerien määrä elintarvikkeessa on  $> 100\,000 \text{ pmy/g}$  [29, s.84]. *Staphylococcus aureus*- bakteeri tuhoutuu tavallisissa ruoanvalmistuslämpötiloissa helposti. Stafylokokkiruokamyrkytyksessä onkin kysymys yleensä aina jälkikontaminaatiosta, jonka estossa on tärkeää huolehtia elintarvikkeiden hyvästä käsittelyhygieniasta. Toinen tärkeä periaate torjunnassa on estää elintarvikkeisiin mahdollisesti päässeiden stafylokokkien lisääntyminen. Torjunta perustuu jatkuvaan kylmäketjuun, sen hallintaan ja hyvään käsittelyhygieniaan. [18, s.65.] Sen sijaan *Staphylococcus aureus*- bakteerin tuottamat enterotoksiinit ovat erittäin lämmönkestäviä, eivätkä ne tuhoudu ruoasta tavanomaisessa kuumennuskäsittelyssä [29, s.87].

*Staphylococcus aureus*- bakteeri pystyy kasvamaan sekä aerobisissa että anaerobisissa oloissa. Se ei kuitenkaan pysty kasvamaan jääkaappilämpötiloissa. Kasvun optimilämpötila on  $+35\text{--}+37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Lisäksi bakteeri säilyy hyvin kuivissa olosuhteissa, sekä sillä on alhainen minimi  $a_w$ - arvo (0,83). [18, s.62.] Bakteerin kasvuparametreja on kuvattu taulukossa kaksi.

**TAULUKKO 2. *Staphylococcus aureus*- bakteerin kasvuparametrit [30].**

Parametri		Raportoidut arvot
Minimi $a_w$ (lisääntyminen) (toksiinintuotto)	NaCl	0,83 - 0,86
	Glyseroli	0,9
		0,87
Korkein siedetty NaCl-pitoisuus; lisääntyminen		25 % (a)
Korkein siedetty NaCl-pitoisuus; toksiinin tuotto		10 %
pH (lisääntyminen)	Min	4,0
	Optimi	6,5 - 7,5
	Max	9,8
Kasvulämpötila	Min	6,7 °C (b)
	Optimi	35 - 37 °C
	Max	47,8 °C
Lämmönkestävyys/solut (D-arvo)	rasvaton maito	65,6 °C / 0,28 min
	rasvaton maito	75 °C / 0,02 min
	rasvaton maito + 45 % sokeria	60 °C / 115,08 min
	hernekeitto	60 °C / 6,7 - 6,9 min
Muuta	Kasvaa sekä hapellisissa että hapettomissa olosuhteissa. Huono kilpailija. Enterotoksiini säilyy pakastettaessa. 100 °C / > 1 h ei riitä tuhoamaan toksiinia.	

(a)NaCl 5 % (pH 4,8) vaikuttaa ehkäisevästi kasvuun.

(b)Lämpötilaraja-arvot toksiinintuotolle 10 - 46 °C.

Bakteeri tarttuu ruokaan työntekijän käsien välityksellä. Myös elintarvikkeeseen pudonneet hiukset voivat saastuttaa tuotteen. Yleisimpiä välittäjäelintarvikkeita ovat sellaiset lihaa, kalaa ja/tai munaa sisältävät ennalta valmistetut ruoat, jotka syödään kylmänä tai joita on käsitelty paljain käsin. Taudin itämisaika on tavallisimmin 1–6 tuntia, mutta se voi vaihdella puolesta tunnista kahdeksaan tuntiin. Oireita ovat äkillinen päänsärky, voimakas pahoinvointi ja oksennustauti, johon liittyy kouristuksia. Ripulia esiintyy harvoin. Oireiden voimakkuus riippuu elimistöön joutuneen myrkytymäärästä, mutta suurimmalla osalla sairastuneista oireet ovat lieviä. Yleensä tauti paranee muutaman vuorokauden sisällä. [31]

Suomessa yleisiä *Staphylococcus aureus*- bakteerin aiheuttamia ruokamyrkytyksiä välittäviä elintarvikkeita ovat olleet hiillostetut ja savustetut silakat ja joulukinkku [18, s.65]. Lisäksi lihaa, kalaa ja munaa sisältävät ennalta valmistetut ruoat, jotka syödään myöhemmin kylmänä [27, s.22]. *Staphylococcus aureus*- bakteeri on myös yleinen sairaalainfektioiden aiheuttaja [18, s.62].



### 2.8.3 *Listeria monocytogenes*

Listerioita on tunnistettu seitsemän eri lajia: *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Listeria seeligeri*, *Listeria ivanovii*, *Listeria welshimeri*, *Listeria murrayi* ja *Listeria grayi*. Näistä vain kaksi on tautia aiheuttavaa bakteeria. *Listeria monocytogenes*-bakteeri on zoonoosi ja *Listeria ivanovii*-bakteeri on lähinnä lammaspatogeeni, joka vain harvoin on yhdistetty ihmisen kliiniseen sairauteen. [32, s.2.]

*Listeria monocytogenes*-bakteeri on fakultatiivisesti anaerobi, ja siten se pystyy kasvamaan niin hapettomissa kuin hapellisissa olosuhteissa. Se kykenee kasvamaan laajalla pH-alueella, lisääntymään alhaisessa lämpötilassa, kestää korkeaa suolapitoisuutta ja sietää melko hyvin nitriittiä ja nitraattia. [33, s.79.] Sen kasvun lämpötila-alue on laaja (-0,4- +45 °C) eli se on psykrotrofinen. Se lisääntyy vielä 10–12 % suolapitoisuuksissa. Kaikkia *Listeria monocytogenes* kantoja pidetään patogeenisinä. [18, s.55.] *Listeria monocytogenes*-bakteerin kasvuparametreja on kuvattu taulukossa kolme.

**TAULUKKO 3. *Listeria monocytogenes*-bakteerin kasvuparametrit [30].**

Parametri		Raportoidut arvot
Minimi $a_w$ (lisääntyminen)	NaCl	0,92 - 0,93
	Sakkarooosi	0,92
	Glyseroli	0,90
	Propyleeniglykoli	0,97
Korkein siedetty NaCl-pitoisuus		25.5 % ( $a_w$ 0,83)
pH (lisääntyminen)	Min	4,1
	Optimi	7,0
	Max	9,4
Alin siedetty pH		3,6
Kasvulämpötila	Min	-1,5 °C
	Optimi	30 - 37 °C
	Max	45 - 50 °C
Lämmönkestävyys/solut (D6-arvo) vesifaasissa	60 °C	45 min
	65 °C	10 min
	70 °C	2 min
	75 °C	30 s
	80 °C	5 s
	85 °C	1 s

*Listeria monocytogenes* on yleisesti ympäristössä esiintyvä bakteeri, joka on yksi hankalimmista elintarviketuotantolaitoksissa esiintyvistä patogeeneista. *L. monocytogenes* on erittäin resistentti useita ulkoisia tekijöitä kohtaan. Se kykenee selviämään ja lisää-

tymään hankalammissa olosuhteissa kuin monet muut itiöttömät bakteerit. [33, s.3.] Se sopeutuu hyvin ympäristöolosuhteisiin ja voi muodostaa biofilmiä [33, s.79]. Pakastaminen ei tuhoa listeriaa [27, s.63].

*Listeria monocytogenes*-bakteeria esiintyy lihatuotteiden raaka-aineissa, joten prosessin aikana tapahtuva kuumennuskäsittelyn tulee olla riittävän tehokas tuhoamaan sen. Suurin riski tuotteen hygieenisen laadun kannalta onkin mahdollinen jälkikontaminaatio kuumennuskäsittelyn jälkeen. Laitteissa, joissa on rakenteita, joita on vaikea puhdistaa tai osia, joita ei voi irrottaa pesuja varten, voi esiintyä mikrobiongelmia. Tutkimusten mukaan on todennäköistä, että viipalointikone on pahin tuotteiden kontaminaatiolähde. Joillakin laitoksilla tietyt kannat esiintyvät sekä tuotannon aikana, että pesujen jälkeen toistuvasti, mikä kertoo laitoksen pysyvästä kontaminaatiosta. [33, s. 40–41.] Tällaista pysyvää kontaminaatiota saattaa pitää yllä esimerkiksi konerasvassa elävä mikrobikanta. Konerasvojen valinnassa tulisi ottaa huomioon elintarviketeollisuuden erityisvaatimukset. [33, s.69.] Voiteluaineissa voi esiintyä myös tautia aiheuttavia bakteereita kuten *L. monocytogenes*-bakteeria [33, s.77].

Erityisesti kypsennetyt tuotteet, joissa kuumennuskäsittelyn vuoksi kilpailevien bakteerien määrä on alhainen, ovat jälkikontaminoituessaan *Listeria monocytogenes*-bakteerilla erittäin riskialttiita. Riskiä lisää elintarvikkeiden pakkaaminen suojakaasu- tai vakuumipakkaukseen, jossa aerobisten pilaajabakteerien aiheuttamat pilaantumismuutokset viivästyvät. Tällöin *Listeria monocytogenes* pystyy lisääntymään. Vaikka tuote sisältäisi hyvinkin suuria määriä *Listeria monocytogenes*-bakteeria, tätä ei voida aistinvaraisesti havaita, sillä bakteeri ei aiheuta muutoksia tuotteen hajussa, maussa tai rakenteessa. [33, s.80.]

Listeria-bakteerin kyky aiheuttaa oireinen tauti, listerioosi, on kuitenkin varsin heikko. Näin ollen, vaikka bakteeria olisi elintarvikkeessa suurempiakin määriä, ei siitä ole yleensä terveelle aikuiselle vaaraa. Alle 100 pmy/g elintarviketta ei pidetä terveelle aikuiselle ruokamyrkytysriskin kannalta merkitseväenä. [17, s.201.] Terveelle aikuiselle tai lapselle ruoka, joka sisältää korkeita pitoisuuksia *Listeria monocytogenes*-bakteeria (noin  $10^6$  pmy/g), voi aiheuttaa kuumeisen vatsataudin, tai vain ohimenevän suolistokantajuuden. Väestöstä 1-5 % on tilapäiskantajia. [21, s.630.] Listerioosi voi esiintyä ihmisillä invasiivisessa ja ei-invasiivisessa muodossa. Invasiivista muotoa esiintyy yle-

sä tietyillä riskiryhmillä, joita ovat raskaana olevat naiset, syntymässä olevat lapset, vanhukset ja sellaiset ihmiset, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt. [18, s.57.] Näille henkilöille listeriabakteeri aiheuttaa henkeä uhkaavan kuumeisen yleisinfektion. Infektiossa listeriabakteeri tunkeutuu potilaan verenkiertoon, usein myös selkäydinnteeseen, saaden aikaan myös aivokalvontulehduksen. Raskauden aikainen listerioosi saattaa johtaa keskenmenoon. Listeriabakteerin infektiivistä annosta riskiryhmälle ei tiedetä. [17, s.201.] Kuolleisuus listerioosiin on 20–40 %. Riskiryhmään arvioidaan kuuluvan 20–30% väestöstä. [34]

*Listeria* tuhoutuu kuumennettaessa ( $> +72\text{ }^{\circ}\text{C}$  astetta), mutta kypsennettyihin tuotteisiin se voi joutua jälkisaastutuksena, esimerkiksi viipaloinnin yhteydessä. Esimerkiksi *Listeria monocytogenes* -bakteerin lukumäärän lisääntymiseen satakertaiseksi vakuumpakatussa kinkussa (pH 6,6, NaCl 2,8 g/l,  $\text{NO}_2$  170 mg/l) lämpötila-aikayhdistelmät ovat  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$  astetta 20 vrk ja  $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$  astetta 9 vrk. [34]

*Listeria monocytogenes*- bakteeria voi esiintyä erityisesti maidossa ja maitotuotteissa, lihassa ja lihatuotteissa, kalassa ja kalatuotteissa sekä vihanneksissa. Listerian suhteen riskielintarvikkeita ovat kuumentamatta syötävät elintarvikkeet, joilla on pitkä myyntiaika. Näitä ovat muun muassa vakuumpakatut kylmäsavustetut ja graavisuolatut tuotteet, maito ja pateet, sekä lisäksi pastöroimaton maito, siitä valmistetut juustot, homejuustot ja tuorejuustot. [29, s.59.]

Suomessa esiintyy yleensä muutamia kymmeniä todettuja listeriooseja vuosittain. Yhteys epidemian aiheuttajaan on vaikea todeta, koska sairastumisen ja syömisen välillä on voinut kulua aikaa useita viikkoja. [35, s.110.] Todennettuja epidemioita Suomessa ovat aiheuttaneet tyhjiöpakattu kylmäsavukirjolohi ja voi. Epidemian aiheuttaneesta voista otetusta näytteestä todettiin 11 400 pmy/g *Listeria monocytogenes*- bakteeria. [21, s.632.] *Listeria monocytogenes* on kuvattu ja eristetty jo 1920-luvulla. Alkuun sen aiheuttamaa listerioosia pidettiin tautina, joka tarttuu listerioosiin sairastuneista ihmisistä. Vasta 1980-luvulla *Listeria monocytogenes* saastuttamien elintarvikkeiden todettiin aiheuttavan ihmisten sairastumisia. Ensimmäinen tieteellisesti osoitettu elintarvikeperäinen epidemia oli Kanadassa ja sen aiheutti kaaliraaste. [21, s.629.]

Erilaisissa tuotantolaitoksissa, kuten liha- ja kalajalostetehtaissa, yleiseen hygieniaan liittyvät oikeat menettelyt, etenkin pintojen ja laitteiden puhtaanapito, riittävä tuotantotilojen kuivaaminen, ja mikrobiologinen kontrolli HACCP- periaatteiden mukaisesti ovat tärkeitä. Tuotantotiloihin ei saisi päästää asiattomia ihmisiä ja kulkua eri tilojen välillä tulisi minimoida. Esimerkiksi raakojen aineksien käsittelijöitä ei tulisi päästää alueelle, missä valmiit tuotteet ovat. [27, s.70.] Elintarviketurvallisuusviraston suosituksen mukaan *L. monocytogenes* -bakteeria on tutkittava tuotantoympäristöstä ja –laitteista erityisesti yrityksissä, jotka valmistavat sellaisenaan syötäviä tuotteita, joissa *L. monocytogenes* voi lisääntyä myyntiaikana. [36]

#### **2.8.4 Aistinvarainen laatu**

Aistinvarainen arviointi, jossa elintarvikkeen neljää ominaisuutta arvioidaan ihmisaistein tai laitteilla, on erittäin oleellinen tutkimus, kun määritellään elintarvikkeen laatua. Aistinvaraisen arvioinnin rinnalla tehdään luonnollisesti myös mikrobiologisia ja kemiallisia määrittäyksiä, jotka auttavat arvioimaan elintarvikkeen pilaantumisasetta ja säilyvyyttä. [18, s.178.]

Elintarvikkeen pilaantumisella tarkoitetaan kaikkia niitä aistittavia ominaisuuksia, jotka siis vaikuttavat epäedullisesti elintarvikkeen makuun, hajuun, ulkonäköön ja rakenteeseen. [18, s.178.] Mikrobit voivat vaikuttaa elintarvikkeen pilaantumiseen monin eri tavoin. Kun mikrobit lisääntyvät, niiden aineenvaihdunnassa muodostuu pilaantumista aiheuttavia yhdisteitä. Pilaantumiseen liittyvät aistittavat ominaisuudet vaihtelevat aiheuttajamikrobien ja elintarvikkeiden mukaan. Esimerkiksi elintarvike, jossa on  $10^7$  pmy/g, voi olla täysin moitteeton aistinvaraisesti arvioituna. [18, s.179–181.]

### **2.9 Mikrobiologisia ohjearvoja ja suosituksia**

Lihavalmisteiden mikrobiologisesta laadusta viimeisenä käyttöpäivänä on olemassa sekä velvoittavia säädöksiä, että kansallisia suosituksia. Komission asetus (EY) N:o 2073/2005 elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista annettiin 15 päivänä marraskuuta 2005. Asetuksessa säädetään elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista ja täytöntöönpanosäännöistä, joita elintarvikealan toimijoiden on noudatettava. Asetus sisältää elintarvikkeiden turvallisuutta koskevia vaatimuksia sekä prosessin hy-

gieniavaatimuksia. Asetus sisältää myös näytteenotto- ja testaussääntöjä sekä toimenpideohjeita, joita toimijan on toteutettava raja-arvojen ylittyessä. Lihavalmisteiden turvallisuusvaatimuksiin kuuluu muun muassa *Listeria monocytogenes*-bakteerin määrittäminen tuotteista. Raja-arvo on mainittuna taulukossa neljä. [37]

Elintarviketeollisuusliiton Valmisruokateollisuusyhdistyksen hygieniaryhmä on laatinut keskeisille tuoteryhmille mikrobiologiset ohjausarvot. Eri tuoteryhmille on määritetty sille tyypillisten pilaajabakteerien ja patogeenien ohjausarvot viimeisenä käyttöpäivänä, kuten taulukossa neljä on kuvattu. Säilytyslämpötilana on säilyvyyskokeissa käytetty  $+6\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ . Säilyvyyskokeilla tuotteen valmistaja saa tietoa elintarvikkeiden mikrobiologisesta pilaantumisnopeudesta sekä HACCP:n toimivuudesta. [38, s.7.]

**TAULUKKO 4. Lihavalmisteiden ohjausarvoja [37, 38].**

Mikrobi	Raja-arvo: pmy/ g	Mihin perustuu
<i>Listeria monocytogenes</i>	100	Komission asetus elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista 2073/2005
Aerobien mikrobien kokonaismäärä	m= 100 000 M= 1 000 000 (toimenpideraja)	Valmisruokien ja lihavalmisteiden mikrobiologiset ohjausarvot viimeisenä käyttöpäivänä (ETL)
Enterobakteerit	m= 100 M= 500 (toimenpideraja)	
Maitohappobakteerit	m= 500 000 M= 10 000 000 (toimenpideraja)	
Sulfiittia pelkistävät klostridit (anaerobi pakkaus)	m= 10 M= 100 (toimenpideraja)	

Lisäksi Eviran ohjeessa 10501/1 Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaatimukset, komission asetuksen (EY) no 2073/2005 soveltaminen; Ohje elintarvikealan toimijoille, annetaan suositeltuja näytemääriä ja tiheyksiä *Listeria monocytogenes*-bakteerin tutkimiseen lihavalmisteita valmistaville laitoksille. Määrät perustuvat laitosten vuosituotantomääriin.

Pintojen puhtauden merkitys elintarvikkeiden turvallisuudelle ja ruokamyrkytysten hallinnalle on selkeästi osoitettavissa, kun on kyse teollisuuslaitoksesta, joka valmistaa esimerkiksi sellaisenaan syötävää elintarviketta. Pintapuhtausnäytteet otetaan pinnoilta,

sekä välineistä siivouksen jälkeen, ennen töiden aloittamista. Tulosten arviointi voidaan tehdä taulukon viisi mukaisesti lihanjalostuslaitoksessa. [39, s.45.] Lisäksi laitoksilla voi olla omia raja-arvoja pintapuhtausnäytteiden arvioinnissa. Usein käytetään korkean hygienian alueella tiukempia raja-arvoja, koska siellä käsitellään kypsiä pakkaamattomia tuotteita.

**TAULUKKO 5. Pintapuhtausnäytteiden arviointi lihanjalostuslaitoksessa [39, s. 45].**

Tulos	Mikrobien määrä pmy/ 10 cm <sup>2</sup>
Hyvä	< 18
Välttävä	18–50
Huono	> 50

Eviran ohjeessa 10501/1 annetaan suosituksia pintapuhtausnäytteiden määristä ja näytteenottotiheyksistä lihanjalostuslaitoksissa. Esimerkiksi kypsiä sellaisenaan syötäviä lihavalmisteita valmistavan laitoksen, jonka vuosituotanto on yli 10 miljoonaa kiloa, tulee ottaa pintapuhtausnäytteinä:

- aerobiset mikro-organismit: 5-10 näytettä kerrallaan viikoittain
- *Listeria monocytogenes*- bakteeri: 3-5 näytettä 5-10 kertaa vuodessa. [34, s.47.]

### 3 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Työn kirjallisuudessa kartoitettiin kansainvälisiä otsonivesikäsitelyyn liittyviä elintarviketutkimuksia ja niiden tuloksia. Kirjallisuudesta saatujen tietojen pohjalta päätettiin kokeellisessa osiossa käytettävät arvot sekä tutkittavat parametrit. Näitä olivat muun muassa otsoniveden pitoisuus, käytetyn veden lämpötila ja otsonivesikäsitelyn kesto aika sekä tutkittavat parametrit. Koska tutkimuksen aiheena oli lihavalmisteen säilyvyys, tämän johdosta kirjallisuudessa selvitettiin myös lihavalmisteprosessin mikrobiologisia riskitekijöitä prosessoinnin aikana.

Työn kokeellisessa osassa haluttiin todistaa otsonivesikäsitelyn avulla otsonin mikrobeja tappavaa kykyä. Tavoitteena oli osoittaa mikrobien väheneminen tuotantolaittei-

den pinnoilta otsonivesikäsitteilyn avulla. Toisena tavoitteena oli osoittaa, onko laitteiden sekä lihavalmisteen otsonivesikäsitteilyllä vaikutusta lihavalmisteen mikrobiologiseen sekä aistinvaraiseen laatuun tuotteita pitkään säilytettäessä. Tuotenäytteistä tutkittiin mikrobiologisia parametreja (*L.monocytogenes*, *S.aureus* ja aerobiset mikro-organismit) sekä aistinvarainen laatu. Laitteiden pintojen puhtautta ennen ja jälkeen otsonivesikäsitteilyn seurattiin kontaktinäytteiden avulla.

## 4 TYÖN SUORITUS

Kokeellisen osion ensimmäinen tutkimus tehtiin 23.4.2009. Tutkimuksesta saatujen tulosten perusteella, kokeellinen osuus päätettiin tehdä uudestaan kesäkuussa 2009.

Tutkimuksen varsinainen kokeellinen osuus tehtiin normaalin tuotantotoiminnan päätyttyä tiistaina 23.6.2009. Viipalointilaitteen ja viipalointitilan pesu ja desinfiointi oli tehty 22–23.6 välisenä yönä. Tämän jälkeen viipalointilaitteella oli viipaloitu lihavalmistetta kymmenen tunnin ajan. Väliedesinfioinnit alkoholipohjaisella desinfiointiaineella, jotka tehdään tuotantoaikana kahden tunnin välein, oli tehty normaalisti.

Tutkimuksessa käytettiin seuraavia laitteita ja välineitä viipalointilaitteiston lisäksi:

- pH- mittari Mettler- Toledo MP 120 pH Meter (G.W. Berg Oy)
- lämpömittari Testo 926 (Humitec Oy)
- otsonimittari EcoSensors ECO A 21 ZX (Norketek Oy)
- Steritrox- otsonigeneraattori ST4118MWG (Gjema Oy)

### 4.1 Otsonointi ja tuotenäytteiden tekeminen

Tutkittavaksi koemateriaaliksi oli valittu Järvi- Suomen Portin valmistama keittokinkku. Tuote on savustamaton kokolihaleikkele, jonka suolapitoisuus on 1,9 %.

Keittokinkku oli valmistettu maanantaina 22.6.2009. Omavalvontamittaukset tarkastettiin ja kuumennuskäsittely todettiin onnistuneeksi, koska tuotteen sisälämpötila oli kypsennyksen päätyttyä +73, 2 °C:tta. Tuotteet oli jäähdytetty heti kypsennyksen jälkeen

alle +6 °C:een lämpötilaan. Tuotteet säilytettiin lihavalmistevalmistusvarastossa +2 °C:een lämpötilassa yön yli.

Tuotteet viipaloitiin 23.6.2009. Viipaloidusta erästä otettiin 12 kpl vastaanäytteitä, joka nimettiin sarja A:ksi (=normaali tuote). Tuotteet pakattiin suojakaasupakkaukseen. Suojakaasuna käytettiin typpi/hiididioksidikaasuseosta. Käytetty seossuhde oli 75 % / 25 %. Hapen määrä pakkauksissa oli alle 1 %. Pakkauksen materiaali on polyeenitereftalaatti/ polyeteeni.

Otsonointikokeessa käytettiin Gjema Oy:n Steritrox- otsonointilaitetta ST4118MWG (kuva 3). Steritrox- otsonigeneraattori liitettiin verkostoveteen, paineilmaverkkoon sekä sähköverkkoon. Laitteessa käytettiin kylmää vettä, koska otsonin liukenevuus kylmään veteen on parempi kuin kuumaan veteen. Laitteen mode- valitsin käännettiin kohtaan water.



**KUVA 3. Steritrox- otsonointilaitte ST4118MWG [40].**



Kun vesi virtasi laitteiston läpi, kytkettiin paineilma ja sähkö. Tämän jälkeen laitettiin virta päälle. Tämän jälkeen tarkistettiin ja tarvittaessa säädettiin, että laitteen arvot olivat käyttöohjeen mukaiset (liite1):

- Reactor flow- lukema: 10
- Reactor pressure- lukema: 3-9
- Water- lukema: 2,5–3,5

Otsonointi käynnistettiin ja tasoksi valittiin 50 %:n teho. 50 %:n teholla laitteesta saatavan otsoniveden pitoisuus on teoriassa 3,5 mg/ l, kuten taulukossa kuusi on esitetty. Kun laite otsonoi vettä, syttyy mittaritauluun sininen merkkivalo (kuva 4).

**TAULUKKO 6. Laitteen antaman otsoniveden säädöt [8].**

Reactor power / %	Otsonin pitoisuus vedessä/ mg/ l
100	6,8
80	5,5
50	3,5



**KUVA 4. Otsonilaitteiston mittaritaulu [40].**

Veden mukana tuli otsonille ominainen haju lievässä huonetilaan. Otsonivettä laskettiin noin viiden minuutin ajan lattialle, jotta sen pitoisuus tasaantui. Tämän jälkeen otsonivettä laskettiin muoviasiaan, josta veden pH ja lämpötila mitattiin (kuva 5).

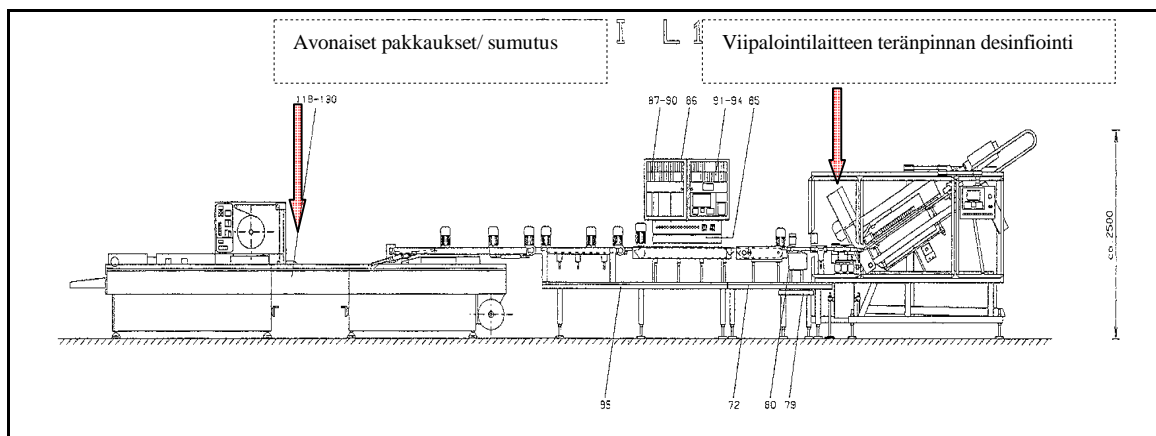


**KUVA 5. Otsoniveden lämpötilan ja pH:n mittaus [40].**

Viipalointilaitteesta oli ennalta valittu kolme kriittisintä aluetta, jotka haluttiin käsitellä otsonivedellä. Näiden otsonivedellä käsiteltyjen alueiden oletettiin vaikuttavan vähentävästi viipaloitujen lihavalmisteen mikrobimäärään säilytyksessä.

Viipalointilaitteen terän suojus nostettiin ylös. Käsiteltäville pinnoille, muoviselle leikkuulaudalle, teräspöydälle ja viipalointilaitteen terälle valutettiin otsonisaattorin suuttimen nokasta otsonivettä minuutin ajan kullekin. Tämän jälkeen pintojen annettiin valua viiden minuutin ajan (kuvat 6,7 ja 8). Otsonivesikäsitelyn jälkeen teräsuoja laskettiin alas ja linja käynnistettiin.

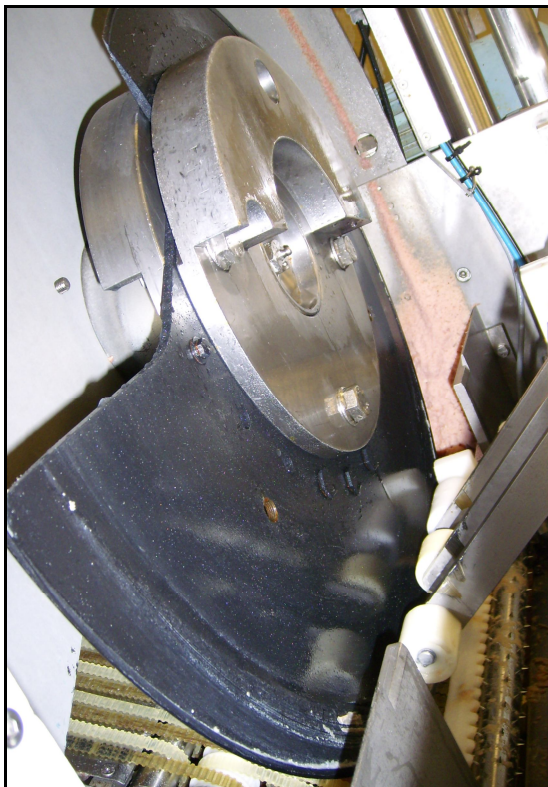




**KUVA 6. Viipalointilinjan sivukuva [41].**



**KUVA 7. Teräspöydän desinfiointi [40].**



**KUVA 8. Viipalointilaitteen otsonivedellä käsitelty terä [40].**

Keittokinkut viipaloitiin ja pakattiin normaalisti suojakaasuun. Tästä otettiin 12 ensimmäistä rasiaa näytteeksi, jotka nimettiin sarja B:ksi. Tämän jälkeen linjasto pysäytettiin. Puhtaaseen sumutinpulloon laskettiin otsonivesilaitteesta otsonivettä. Pullo huuhdeltiin otsonivedellä. Pullo täytettiin uudelleen ja välittömästi tämän jälkeen avonaisiin tuotepakkauksiin sumutettiin kaksi suihkausta jokaiseen rasiaan otsonivettä, kuten kuvassa 9 on esitetty. Pakkaukset pakattiin normaalisti suojakaasuun. Tämä koesarja nimettiin sarja C:ksi. Näytteeksi otettiin 12 rasiaa tuotetta.



**KUVA 9. Otsonivesisuihkaukset tuoterasiaan [40].**

Lopuksi mitattiin sumutetun otsoniveden määrä sumuttamalla otsonivettä kaksi suihkausta taarattuun astiaan. Astia punnittiin analyysivaa'alla. Otsonoinnin jälkeen otsonivettä laskettiin uudelleen muoviasiaan, josta pH ja lämpötila mitattiin (kuva 5). Käytetyn verkostoveden laatuksikriteerit varmistettiin pyytämällä Mikkelin kaupungin terveystalvonnasta vesilaitoksen talousvesiraportti kesäkuulta 2009.

Lopuksi otsonigeneraattori sammutettiin käänteisessä järjestyksessä käynnistykseen verrattuna. Laitteiston läpi annettiin valua puhdasta vettä, jotta se huuhtoutui. Lopuksi vesi, sähkö ja paineilma kytkettiin pois päältä. Kun laitteisto siirrettiin seuraavaan käyttöpaikkaan, se kuljetettiin pystyasennossa. Laitteistossa olevalle aktiivihiihliisuodattimelle oli ainoastaan 30° kallistus sallittua.

## **4.2 Pintapuhtausnäytteet**

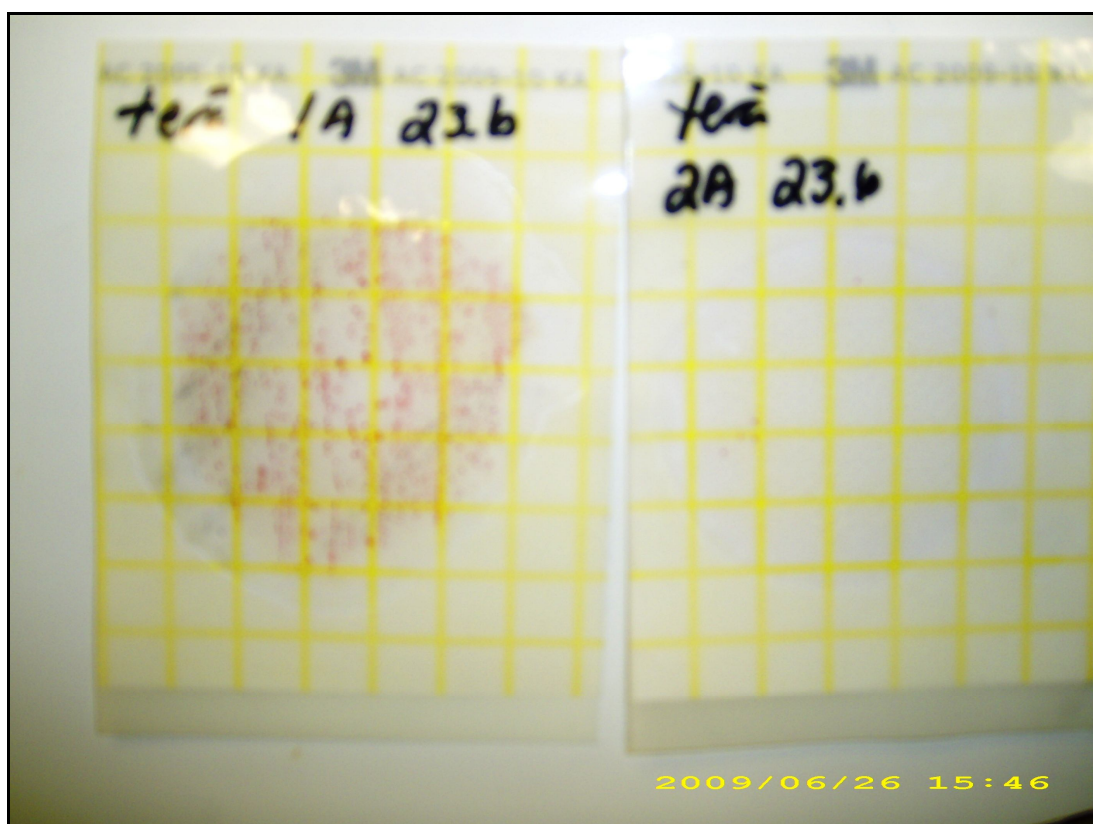
Tutkimuksen yhtenä osa-alueena oli selvittää otsonin mikrobeja tappava vaikutus tuotantolaitteiston pinnoilta. Tämä asia selvitettiin ottamalla pinnoilta kontaktinäytteitä. Näytteenotossa käytettiin 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate- kasvatusalustoja.



Tämä alusta on suunniteltu kokonaisbakteerien määrittämiseen 48 tunnissa. Bakteeripesäkkeet värjäytyvät vaalealla alustalla punaisiksi. [42]

Petrifilmit kostutettiin pipetoimalla jokaisen petrifilmin alakalvolle 1 ml tislattua steriiliä vettä. Yläkalvo painettiin kiinni ja muovisella levittimellä painettiin se tiiviiksi. Petrifilmien annettiin olla paikallaan muutaman minuutin ajan, jotta näytteenottogeeli muodostui. [43, s.41] Ennen näytteenottoa alustat merkittiin näytenumeroilla ja näytteenotto-päivällä. Näytteenotossa yläkalvo painettiin tutkittavaan pintaan kiinni muutaman sekunnin ajaksi. Tämän jälkeen kalvot painettiin takaisin vastakkain

Näytteitä otettiin kolmesta eri kohteesta ennen otsonivesikäsitelyä ja sen jälkeen. Näytekohteet olivat teräksinen kuorintapöytä, muovinen leikkuulauta ja viipalointilaitteen terä. Kaikista kohteista otettiin kolme rinnakkaisnäytettä tulosten luotettavuuden varmistamiseksi. Petrifilmejä inkuboitiin Järvi- Suomen Portin laboratorion lämpökaapissa +32 °C:ssa kaksi vuorokautta. Petrifilmeiltä laskettiin kaikki punaiset pesäkkeet kasvustoksi (kuva 10).



**KUVA 10.** Viipalointilaitteen terän pintapuhtausnäyte ennen ja jälkeen otsonivesikäsitelyn [40].

### 4.3 Työhygieeniset mittaukset

Koska otsoni on ihmiselle myrkyllistä hengitettynä, huonetilassa olevan otsonin määrää mitattiin kokeellisen osan ajan. Näin haluttiin varmistua, että työntekijät eivät altistu otsonille, sekä saada selville, kuinka paljon otsonia vapautuu otsonivedestä huoneilmaan. Mittauksessa käytettiin EcoSensorsin otsonimittaria ECO A 21 ZX. Mittari tunnistaa ja mittaa sisäilmasta otsonipitoisuutta välillä 0-10 mg/ l. Huonetilasta mitattiin taustaotsonipitoisuus ennen kuin otsonigeneraattori kytkettiin päälle. Mittari ilmoitti ilmassa olevan otsonipitoisuuden ppm-yksikössä. Tämä vastaa tässä työssä käytettyä yksikköä mg/l. Kokeen päättyessä huoneilman otsonipitoisuus kirjattiin.

## 5 TULOKSET

### 5.1 Säilyvyystutkimukset tuotteesta

Näytteet tutkittiin akkreditoidussa laboratoriossa Mikkelissä. Tuotenäytteitä otettiin 12 kappaletta jokaisesta sarjasta. Näytteet säilytettiin Savolab Oy:n laboratorion säilyvyyskaapissa. Säilytyslämpötila oli +6 °C:tta. Näytteet tutkittiin 1d:n, 25 d:n, 28 d:n ja 30 d:n ikäisinä. Tulosten luotettavuuden varmistamiseksi näytteistä tutkittiin kolme rinnakkaisnäytettä kustakin. Savolabin käyttämät menetelmät olivat:

- Aistinvarainen tutkimus: MIB 61
- Aerobiset mikro-organismit: ISO 4833/2003 muunn. (\*)
- *Staphylococcus aureus*: ISO 6888/1999 muunn. (\*)
- *Listeria monocytogenes*, kvantitatiivinen: ISO 11290-2:1998Amd. 1:2004 (\*)
- Suojakaasut: Oxybaby V-mittari

Menetelmistä (\*- merkityt ovat akkreditoituja menetelmiä.

Taulukoissa 7,8 ja 9 on esitetty eri sarjojen mikrobiologiset ja aistinvaraiset tulokset, sekä pakkauksista mitatut suojakaasut.

**TAULUKKO 7. Sarjan A-tulokset (normaali tuote)**

Näyte	Näytteen ikä/ d	Aistinvarainen laatu (ulkonäkö/haju)	Pakkauksessa oleva O <sub>2</sub> %	Pakkauksessa oleva CO <sub>2</sub> %	Aerobiset mikro- organismit pmy/g	S.aureus pmy/g	L. monocytogenes pmy/g
A1	1	normaali	0,4	7,0	100	<100	<10
A2	1	normaali	1,6	6,9	100	<100	<10
A3	1	normaali	0,2	6,9	100	<100	<10
A1	25	lievämuutos/ normaali	0,0	14,4	9 400 000	<100	<10
A2	25	lievämuutos/ normaali	0,1	11,5	2 900 000	<100	<10
A3	25	lievämuutos/ normaali	1,6	11,6	40 000 000	<100	<10
A1	28	lievämuutos/ normaali	19,4	0,0	75 000 000	<100	<10
A2	28	lievämuutos/ normaali	2,3	9,4	14 000 000	<100	<10
A3	28	normaali	0,4	12,7	120 000 000	<100	<10
A1	30	lievämuutos/ normaali	18,5	0,0	110 000 000	<100	<10
A2	30	normaali	4,5	8,4	220 000 000	<100	<10
A3	30	lievämuutos/ normaali	2,6	13,2	420 000 000	<100	<10

**TAULUKKO 8. Sarjan B-tulokset (viipalointilaitteen terä, teräspöytä ja leikkulauta käsitelty otsonivedellä ennen viipaloitinta)**

Näyte	Näytteen ikä/ d	Aistinvarainen laatu (ulkonäkö/haju)	Pakkauksessa oleva O <sub>2</sub> %	Pakkauksessa oleva CO <sub>2</sub> %	Aerobiset mikro- organismit pmy/g	S.aureus pmy/g	L. monocytogenes pmy/g
B1	1	normaali	0,1	6,4	<100	<100	<10
B2	1	normaali	1,2	6,9	200	<100	<10
B3	1	normaali	0,3	6,4	<100	<100	<10
B1	25	lievämuutos/ normaali	0,0	17,7	3 700 000	<100	<10
B2	25	lievämuutos/ normaali	0,0	17,0	23 000 000	<100	<10
B3	25	lievämuutos	0,0	18,9	177 000	<100	<10
B1	28	lievämuutos/ normaali	2,4	11,8	11 000 000	<100	<10
B2	28	lievämuutos/ normaali	0,3	14,1	8 900 000	<100	<10
B3	28	lievämuutos/ normaali	0,1	16,0	26 000 000	<100	<10
B1	30	lievämuutos/ normaali	0,7	13,9	26 000 000	<100	<10
B2	30	lievämuutos/ normaali	0,8	16,0	24 000 000	<100	<10
B3	30	lievämuutos/ normaali	1,0	16,2	94 000 000	<100	<10



**TAULUKKO 9. Sarjan C-tulokset (viipalointilaitteen terä, teräspöytä ja leikkulauta käsitelty otsonivedellä ennen viipalointia+ tuotteiden sumutus otsonivedellä)**

Näyte	Näytteen ikä/ d	Aistinvarainen laatu (ulkonäkö/haju)	Pakkauksessa oleva O <sub>2</sub> %	Pakkauksessa oleva CO <sub>2</sub> %	Aerobiset mikro- organismit pmy/g	S.aureus pmy/g	L. monocytogenes pmy/g
C1	1	normaali	0,1	7,3	<100	<100	<10
C2	1	normaali	1,9	6,4	<100	<100	<10
C3	1	normaali	1,7	6,5	<100	<100	<10
C1	25	lievämuutos	6,1	11,5	11 000 000	<100	<10
C2	25	lievämuutos/ normaali	5,6	10,7	60 000 000	<100	<10
C3	25	lievämuutos/ normaali	6,0	12,4	15 000 000	<100	<10
C1	28	lievämuutos/ normaali	0,1	15,8	14 000 000	<100	<10
C2	28	lievämuutos/ normaali	1,4	15,3	18 000 000	<100	<10
C3	28	lievämuutos/ normaali	0,8	14,6	46 000 000	<100	<10
C1	30	lievämuutos/ normaali	0,4	15,5	11 000 000	<100	<10
C2	30	lievämuutos/ normaali	0,9	15,9	55 000 000	<100	<10
C3	30	lievämuutos/ normaali	1,6	16,0	57 000 000	<100	<10

## 5.2 Pinnanäytteet ja olosuhdemittaukset

Otsonin mikrobeja tuhoavaa vaikutusta haluttiin selvittää mikrobiologisilla pintapuh-  
tausnäytteillä. Näytteitä otettiin Petrifilmillä ennen ja jälkeen otsonivesidesinfioinnin.  
Tulokset on esitetty taulukossa 10. Taulukkoon 11 on laskettu rinnakkaisnäytteistä  
keskiarvot, sekä otsonoinnin aiheuttaman prosentuaalisen mikrobien vähenemisen tut-  
kitulla pinnalla.

**TAULUKKO 10. Pintapuhtausnäytteiden tulokset**

Näyte	Nro	Pesäkkeitä ennen otsonivesikäsittelyä (A-sarja); pmy/ 20 cm <sup>2</sup>	Pesäkkeitä otsonivesikäsittelyn jälkeen (B-sarja); pmy/ 20 cm <sup>2</sup>
Muovinen leikkuulauta	1	23	0
Muovinen leikkuulauta	2	30	0
Muovinen leikkuulauta	3	14	1
Teräspöytä	1	1	3
Teräspöytä	2	66	4
Teräspöytä	3	4	0
Viipalointilaitteen terä	1	480	5
Viipalointilaitteen terä	2	480	100
Viipalointilaitteen terä	3	480	38

**TAULUKKO 11. Pintanäytteiden keskipitoisuus ja otsonivesikäsittelyn aiheuttama mikrobien väheneminen**

Näyte	A-sarjan (ennen otsonivesikäsittelyä) keskiarvo pmy/ 20 cm <sup>2</sup>	B-sarjan (otsonivesikäsittelyn jälkeen) keskiarvo pmy/ 20 cm <sup>2</sup>	keskiarvo-väheneminen/ %
Muovinen leikkuulauta	22	0	<b>100</b>
Teräspöytä	24	2	<b>92</b>
Viipalointikoneen terä	480	48	<b>90</b>

Tutkimustyön aikana mitattiin useita tutkimusolosuhteisiin liittyviä arvoja. Tutkimuksen aikana haluttiin varmistua, ettei henkilöstö altistu otsonille. Huoneilman mittaustulokset on esitetty taulukossa 12. Lisäksi mitattiin otsoniveden pH ja lämpötila. Otsonin liukenevuus kylmään veteen on parempaa kuin kuumaan veteen. Tulokset on kirjattu taulukkoon 12.

**TAULUKKO 12. Olosuhdemittaukset**

Mitattu asia	Mitattu arvo
Huoneilman otsonipitoisuus aloitettaessa/ mg/ l	0,01
Huoneilman otsonipitoisuus työn aikana/ mg/ l	0,02
Huoneilman otsonipitoisuus lopetettaessa/ mg/ l	0,01
Otsoniveden lämpötila aloitettaessa/ °C	12,3
Otsoniveden lämpötila lopetettaessa/ °C	12,2
Otsoniveden pH aloitettaessa	8,44
Otsoniveden pH lopetettaessa	8,40
Otsoniveden pitoisuus (teoreettinen)/ mg/ l	3,55
Rasiaan sumutetun otsoniveden määrä/ g	1,06
Tuotteen määrä rasiassa/ g	300
Otsoniveden osuus rasiassa olevaa tuotemäärää kohden/ %	0,35
Huoneilman lämpötila/ °C	2,0

## 6 POHDINTA

Tutkimustyö aloitettiin tekemällä kirjallisuuskatsaus otsonin desinfioivaan vaikutukseen ja jo olemassa oleviin otsonointikokeisiin ja niiden tuloksiin. Tämän työn kirjallisuuskatsaukseen poimittiin vain elintarvikesovellukset, joissa käytettiin otsonia veteen liuotettuna. Tutkimuksia, joissa otsonia käytettiin kaasuna, ei huomioitu.

Kirjallisuusselvityksen perusteella valittiin otsoniveden pitoisuudeksi 3,5 mg/l. Tämä oli kirjallisuuden mukaan keskimääräisesti käytetyin pitoisuus pintojen käsittelyssä. Linjaston riskinarviointiin pohjaten, päätettiin etukäteen kolme kriittisintä aluetta viipalointilaitteesta, jotka haluttiin käsitellä otsonivedellä. Näiden pintojen puhtaudella oletettiin olevan merkittävä vaikutus lihavalmisteen mikrobiologiseen laatuun. Käytetty otsoniveden pitoisuus on niin alhainen, että useimmat pinnat kestävät sen. Tässä tutkimuksessa kaikki muut käsiteltävät pinnat olivat terästä, ainoastaan leikkuulauta oli muovia. Tutkimusten mukaan teräs kestää erinomaisesti otsonivesikäsitelyä. Muoviset leikkuulaudat ovat yleensä polypropeenaa (PP) ja sen otsonikestävyys on myös hyvä. Lisäksi otsoniveden vaikutusajan pituutta määritettiin kirjallisuuden avulla. Lopuksi päädyttiin yhden minuutin vaikutusaikaan. Tällä lyhyellä ajalla haluttiin markkeerata

tuotannossa tauoilla tehtävää välidesinfointia. Tähän välidesinfointiin viitaten myös valutusaika jätettiin lyhyeksi eli viiteen minuuttiin. Tuotteiden pakkausmateriaalina käytettiin polyeenitereftalaatti/ polyeteeni- muoveja. Näistä ainoastaan polyeteenille löytyi otsoniyhteensopivuus-tieto, ja se kuvattiin heikoksi.

Otsonivedellä käsiteltävät pinnat olivat ennen käsittelyä aistinvaraisesti arvioituna melko puhtaat. Ainoastaan viipalointilaitteen terään oli kertynyt lihavalmisteista irronnutta rasvaa ja valkuaisaineita. Otsonivesikäsitteilyn ja valutuksen jälkeen pinnat jäivät märkiksi. Teräspöytä oli hivenen muhkurainen ja otsonivettä jäi pinnalle valutusajan jälkeenkin. Samoin muovinen leikkuulauta oli kulunut ja pinta oli huokoinen, joten otsonivettä jäi myös sen pinnalle. Ainoastaan viipalointilaitteen terä, joka oli pystyasennossa, ehti valua lähes kuivaksi.

Tutkimustyön kokeellisessa osiossa käytettiin fyysisesti samaa otsonigeneraattoria kuin Särkkä-Tirkkosen & Leskisen [8] tutkimuksessaan käyttämä laite. Heidän tutkimustyönsä aiheena oli Assessment of chlorine replacement strategies for fresh cut vegetables. He mittasivat projektityössään otsonisaattorin antaman otsoniveden todellisen pitoisuuden mg/ l:ssa, ja vertasivat tulosta laitteessa olevaan prosenttiosoittimeen. Koska tässä lihavalmisteita koskevassa otsonointityössä ei ollut mahdollista mitata laitteen antamaa otsonin määrää vedessä, jouduttiin tässä tukeutumaan edellä mainitun tutkimuksen tuloksiin siltä osin. Kirjallisuuden mukaan otsoni on hyvin herkkä olosuhdevaihteluille. Vaikka tässä työssä käytettiin samaa laitetta kuin Särkkä-Tirkkonen & Leskinen, on mahdollista, että samoilla laitteen säädöillä saatiin eri määrä otsonia jäämään veteen. Tähän vaikuttavat esimerkiksi kunnallisen verkostoveden laatu, veden pH, veden lämpötila tai vedessä olevat epäpuhtaudet. Särkkä-Tirkkosen & Leskisen käyttämän verkostoveden laatuarvot eivät olleet tiedossa. Jotta tulokset olisivat luotettavimmat, tulisi tutkimuksessa olla mahdollista mitata myös otsonivedessä olevan otsonin määrää.

Kokeellisessa osiossa päädyttiin ensimmäisessä koesarjassa käsittelemään viipalointilaitteen pintoja otsonivedellä (sarja B). Toisessa sarjassa suihkautettiin pakkaukseen otsonivettä (sarja C). Tällä haluttiin selvittää onko otsonivedellä mikrobien kasvua estävää vaikutusta. Näitä koesarjoja verrattiin normaalisti ajettuun tuotteeseen (sarja A).

Koesarjojen säilytysajoiksi valittiin erittäin teoreettiset arvot. Koska laitteiston hankintahinta on kallis, haluttiin ylioptimoida otsonoinnista mahdollisesti saatavaa hyötyä. Säilytysajoiksi valittiin 1 d, 25 d, 28 d ja 30 d. Kaikkien viipaloitujen tuotteiden mikrobiologiset ja aistinvaraiset tulokset olivat yhden vuorokauden kuluttua erinomaiset. Aerobien mikrobien kokonaismäärät olivat 100- 200 pmy/g sekä aistittava laatu oli normaali. Pitkän säilytyksen jälkeen tuotteiden mikrobimäärät nousivat. Aerobien mikrobien tasot vaihtelivat 25 d:n ikäisenä A ja B sarjoissa 177 000- 40 000 pmy/g. Tässä vaiheessa A ja B- näytteiden pakkausten hapen määrä oli alle 2 %, joka on kirjallisuuden mukaan hyväksyttävä taso vähähappiselle pakkaukselle. Sarjassa C oli hapen määrä noin 6 %. Tämä hapen määrä mahdollistaa mikrobien kasvua, ja aerobien kokonaismäärä olikin jo näissä näytteissä 11 000 000- 60 000 000 pmy/g. Raja-arvona käytettiin aerobeille mikrobeille ETL:n toimenpidearvoa 1 000 000 pmy/g. Tämä ylitettiin tässä vaiheessa kaikissa C-sarjan näytteissä. 28 d:n ja 30 d:n ikäisenä kaikkien näytteiden aerobien määrä ylitti edellä mainitun toimenpiderajan aerobien mikrobien osalta. A-sarjassa havaittiin kaksi vuotavaa pakkausta. Näissä hapen määrä oli lähes sama kuin ilmassa (19,4 ja 18,5 %) ja hiilidioksidin määrä oli nolla %.

Hiilidioksidia käytetään pakkauksessa suojakaasuna mikrobien kasvua estävän vaikutuksen ansiosta. Näissä koesarjoissa käytettiin CO<sub>2</sub>- pitoisuutena 25 %:a. Pakkauksen hapen ja hiilidioksidin määrät mitattiin heti pakkaamisen jälkeen. Tällöin ne vastasivat kirjallisuuden suositusta, happi oli alle yhden ja hiilidioksidi oli noin 25 %. Hiilidioksidi imeytyy tuotteeseen ja sen määrän pienenemistä pakkauksessa säilytyksen aikana on vaikeaa ennustaa. Kaikissa pakkauksissa oli vuorokauden kuluttua hiilidioksidin määrä noin 7 %. Tämän jälkeen määrät vaihtelivat 8-16 % välillä. Pakkauksessa olevan hiilidioksidin määrälle ja aerobien mikrobien määrille ei löydetty loogista yhtenevyyttä.

Mahdollisia syitä aerobien mikrobien runsaaseen kasvuun ovat esimerkiksi tuotteiden kastuminen kuorintaan käytettävällä teräspöydällä ja leikkuulaudalla. Tuotteissa on kirjallisuuden mukaan korkea  $a_w$ -arvo, noin 0,95 [18, s.320]. Mitä lähempänä  $a_w$ -arvo on yhtä, sitä parempi mahdollisuus mikrobeilla on kasvuun, koska vapaata vettä on niillä käytettävissä enemmän. Mahdollinen ulkoapäin tuleva vesi on todennäköisesti vielä lisännyt mikrobien kasvuille otollista olosuhdetta. Toinen huomioitava seikka on, että tutkimusasetelman laadinnassa oltiin ylioptimistisia otsonin desinfioivaan vaikutukseen lihavalmisteteissa.

Tutkittavissa näytteissä sekä niiden rinnakkaisnäytteissä ei löytynyt yhdestäkään näytteestä patogeenisiä bakteereita, *S.aureusta* tai *L.monocytogenestä*. Kumpikin mikrobi osoittaa jälkikontaminoitumista, joten koe onnistuttiin suorittamaan hygieenisesti siltä osin. *Listeria monocytogenes*-bakteerille annettu EU:n mikrobikriteeriasetuksen 2073/2005 turvallisuutta koskeva raja alle 100 pmy/g alittui. Samoin Elintarviketeollisuusliiton mikrobisuosituksen sama raja alittui. *Staphylococcus aureuksen* määrälle ei löytynyt lakisääteistä raja-arvoa lihavalmisteelle. Kirjallisuuden mukaan otsonivesikäsitelyllä sekä *L.monocytogenes* että *S.aureus* saadaan tuhottua helposti.

Kirjallisuuden mukaan otsonivesikäsitely on tehokas esimerkiksi *E.coli*-bakteeria vastaan. Tutkimuksessa käytetty kypsennetty lihavalmiste ei sisällä pastöroinnin jälkeen mikrobeja kovinkaan paljon. Näin ollen radikaalia vähennystä ei päästy toteamaan. Todennäköisesti raaka-lihavalmiste olisi ollut tutkimuskohteena parempi, koska se sisältää enemmän ja erilaisia bakteereja jo lähtötilanteessa.

Pinnoilta otetuissa mikrobinäytteissä oli kaikissa kasvua ennen desinfiointia. Määrät olivat keskimäärin muovisella leikkuulaudalla 22, teräspöydällä 24 ja viipalointilaitteen terässä 480 pmy/20 cm<sup>2</sup>. Tähän vaikutti tietysti se, että laitteella oli viipaloitu jo 10 tuntia ennen tämän tutkimuksen suorittamista. Tuotantohenkilöstö oli tehnyt kahden tunnin välein tehtävät välidesinfioinnit omaohjelman mukaisesti. Otsonivesikäsitelyn jälkeen otetuissa näytteissä oli vielä osassa näytteissä mikrobikasvua, mutta huomattavasti vähemmän kuin ennen käsittelyä. Muovisessa leikkuulaudassa ei ollut kasvua, teräspöydässä 2 pmy/20 cm<sup>2</sup> ja viipalointilaitteen terässä 48 pmy/20 cm<sup>2</sup>. Kaikkien otettujen näytteiden keskimääräinen mikrobien vähenemä oli 94 %, joka oli minuitin otsonointituloksena erinomainen. Tulos vastasi kirjallisuudesta löydettyjä arvoja. Lisäksi otsonivesikäsitelyn jälkeiset tulokset alittivat kirjallisuudessa annetut raja-arvot lihanjalostuslaitoksen pintapuhtausnäytteille. Hyvän rajana käytetään < 40 pmy/20 cm<sup>2</sup> [39, s.45].

Tekniikkana otsonivesikäsitely oli täysin erilainen kuin käytössä oleva välidesinfiointimenetelmä. Normaalisti välidesinfioinnissa kaavitaan kuivana mahdolliset lihavalmisteista irronneet palaset pois ja sen jälkeen pinnalle sumutetaan desinfiointiainetta. Käytössä oli alkoholipohjainen desinfiointiaine, jota ei huuhdeltu pois. Mikrobien kasvua

estävänä tekijänä on lisäksi pidetty sitä, että tila ja pinnat pidetään mahdollisimman kuivana työpäivän aikana. Tätä tilan kuivumista edesauttaa yöaikaisen puhdistuksen yhteydessä käynnistettävä pesuaikainen ilmastointi. Tässä puhalletaan huonetilaan +20 °C ilmaa, ja noin tuntia ennen tuotantotoiminnan aloitusta tilaan palautetaan jäähdyttävä ilmastointi ja lämpötila pudotetaan +2 °C:een. Vaatisi runsaasti lisätutkimuksia, mitä linjastolle ja mikrobien kasvulle tapahtuisi, jos linjasto olisi koko työpäivän märkänä.

Ilmassa olevan otsonin määrä oli pieni, vain 0,01–0,02 mg/ l otsonia, joka oli hyvä asia. Tähän vaikuttivat todennäköisesti huonetilan korkeus, joka oli kuusi metriä sekä ilmamäärän suuri vaihtuvuus, joka oli 7,5 m<sup>3</sup>/s. Lisäksi kokeessa käytettiin kylmää verkostovettä, johon otsoni sitoutuu hyvin. Suomessa HTP-rajana otsonille on 0,05 mg/ l/8h ja 0,2 mg/ l/15 min. Nämä raja-arvot eivät ylittyneet kokeen aikana kertaakaan.

Koska otsoni on niin reaktiivinen aine, voidaan kirjallisuudesta saatuja tuloksia pitää vain ohjeellisena. Käytännössä, jos aiotaan hankkia tehokas otsonipuhdistus ja -desinfiointijärjestelmä, on suositeltavaa tehdä se täysin räätälöitynä tiettyyn kohteeseen. Tähän kuuluu käsiteltävien pintojen otsonikestävyys selvitystyö, paras otsonin käyttötapa (vesi-kaasu), käytettävä otsoniannostus ja otsonijäännös, vaikutusaika ja mikrobiologiset analyysit. Näiden tutkimusten kustannukset tulisi ottaa huomioon laitteiston lisäksi hankintaa tehdessä. [7, s.31.] Käytännön esimerkkinä yhdysvaltalainen lihanjalostuslaitos Plumrose Inc. yritys käyttää otsonoitua vettä tuotantotilojen ja -laitteiden desinfiointiin. Yrityksellä on keskitetty otsonin valmistusjärjestelmä. Otsoni ohjataan tuotantotiloihin veteen sekoitettuna matalalla paineella putkistoa pitkin. Käytetyn otsoniveden pitoisuus on 1 mg/ l. Aiemmin yrityksessä käytettiin natriumhypokloriittia puhdistukseen. Otsonilaitteiston hinta oli 73 800 USD, mutta se on kuoleentunut jo 9 000 USD:lla vuosineljänneksen aikana hypokloriitin käyttökulun loputtua. [7, s.33.]

Tämän otsonivesikokeen perusteella, otsonivesilaitteisto voisi korvata lihanjalostuslaitoksessa ainoastaan välidesinfiointia. Koska pinnoille jää aistinvaraisesti arvioituina runsaasti massaa, lihapaloja ja –silppua, ei kylmään veteen liuotetulla otsonivedellä, jossa käytetään normaalia verkostovesipainetta (7 bar), pystytä saamaan riittävää pesutulosta pesuille varatussa ajassa. Mahdollinen käyttösovellus voisi olla esimerkiksi kylmävaraston lattia, jossa ei saa käyttää kuumaa vettä, joka voisi höyrystyä varastossa olevien tuotteiden pinnalle tai lämmittää tilan ilmaa.

Kuten minkä tahansa uuden teknologian, otsonoinnin käyttökokemusten puute, saattaa hidastaa sen käyttöönottoa. Vaikkakin otsonoinnin merkittäviä hyötyjä on tunnistettu, täydellisiä teollisia sovelluksia ei ole kehitetty. Toinen hidastava tekijä saattaa olla laitteiston hinta. Otsoni valmistetaan aina käyttöpaikassa ja erään valmistajan otsonisaattorien hinnat vaihtelivat 10 000- 100 000 USD [10, s.14].

## 7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Otsoni on hyvin herkkä olosuhdevaihteluille. Vaikka tässä työssä käytettiin samaa laitetta kuin Särkkä-Tirkkonen & Leskinen, on mahdollista, että samoilla otsonigeneraattorin säädöillä saatiin eri määrä otsonia jäämään veteen. Tähän vaikuttavat esim. kunnallisen verkostoveden laatu, esim. veden pH, veden lämpötila tai vedessä olevat epäpuhtaudet. Jotta tulokset olisivat luotettavammat, tulisi olla mahdollista mitata myös otsonivedessä olevan otsonin määrää. Tässä tutkimuksessa se ei ollut mahdollista.

Kirjallisuudesta ei löytynyt tutkimustuloksia kypsien lihavalmisteen käsittelystä otsonivedellä. Tutkimusasettelussa oltiin ylioptimistisia, arvioitaessa otsonin kykyä estää tuotteessa olevien mikrobien kasvua. Tämän johdosta tuotteiden säilytysajoissa epäonnistuttiin säilytysvuorokausien arvioinnissa. Säilyvyysajan pidentämisellä olisi saavutettu taloudellista hyötyä. Tällöin valmistaja olisi voinut tehdä pidempiä valmistussarjoja ja minimoida mahdolliset hävikit..

Otsonivesikäsittely vaikutti erittäin mielenkiintoiselta ja ympäristöystävälliseltä teknologialta pintojen desinfioinnissa. Mikrobeja tappava teho onnistuttiin todistamaan erinomaiseksi, koska kaikkien otsonoinnin jälkeen pinnoilta otettujen näytteiden mikrobien prosentuaalinen vähenemä oli 94 %. Tämän otsonivesikokeen perusteella, otsonivesilaitteisto voisi kuitenkin korvata lihanjalostuslaitoksessa ainoastaan välidesinfointia. Koska pinnoille jää aistinvaraisesti arvioituina runsaasti massaa, lihapaloja ja –silppua, ei kylmään veteen liuotetulla otsonivedellä, jossa käytetään normaalia verkostovesipainetta (7 bar), pystytä saamaan riittävää pesutulosta pesuille varatussa ajassa. Mahdollinen käyttösovellus voisi olla esimerkiksi kylmävaraston lattia, jossa ei saa



käyttää kuumaa vettä, joka voisi höyrystyä varastossa olevien tuotteiden pinnalle tai lämmittää tilan ilmaa.

Tässä tutkimuksessa käytettiin pastöroitua kypsää tuotetta. Pastöroiduissa tuotteissa mikrobien lähtötaso oli matala. Todennäköisesti raaka lihatuote olisi sopinut tutkimusmateriaaliksi paremmin. Raaka'assa tuotteessa on lähtötilanteessa enemmän ja erilaisia mikrobeja. Myös kirjallisuudesta löytyi enemmän tutkimustuloksia raaoista tuotteista. Tulevaisuudessa olisi mielenkiintoista tutkia vakuumiin pakattavan raakalihavalmisteen säilyvyyttä.

## 8 LÄHTEET

1. Backlund, Peter, Kemikaalit ja työ, Selvitys työympäristön kemikaaliriskeistä. Helsinki: Työterveyslaitos. 2005
2. Airaksinen, Terhi, Otsonin käytön aiheuttamat turvallisuusriskit. B: Artikkeleita, opinnäytetöitä, tiedotteita. Mikkeli: Mikkelin ammattikorkeakoulu. 2000.
3. Kim, Jin-Gab & al., Ozone and its current and future applications in the food industry. USA: Advances in food and nutrition research 45. 2003.
4. Ilmatieteen laitos, Otsoni. WWW-dokumentti. Luettavissa:  
[http://www.fmi.fi/tutkimus\\_otsoni/otsoni\\_7.html](http://www.fmi.fi/tutkimus_otsoni/otsoni_7.html). Päivitys ei tiedossa. Luettu 27.9.2009.
5. Ilmatieteen laitos, Stratosfäärin otsoni- muodostuminen ja tuhoutuminen. WWW-dokumentti. Luettavissa:  
[http://www.fmi.fi/tutkimus\\_otsoni/otsoni\\_10.html](http://www.fmi.fi/tutkimus_otsoni/otsoni_10.html). Päivitys ei tiedossa. Luettu 28.9.2009.
6. Guzel-Seydim, Zeynep & al., Use of ozone in the food industry. Sveitsi: Lebensm.-Wiss.u.-Technol 37. 2004.
7. Pascual, A. & al., Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. USA: Trends in Food Science & Technology 18.2007.
8. Ölmez, Särkkä-Tirkkonen & Leskinen., Case study: Assessment of chlorine replacement strategies for fresh-cut vegetables. Report 13 of Subproject 5 of EU project no. 50635 "Quality Low Input Food". Germany: Research Institute of Organic Agriculture. 2008.

9. Benli, H. & al., Biomechanical and microbiological changes in natural hog casings treated with ozone. USA: Meat Science 79.2008.
10. Majchrowicz, Alex, Food Safety Technology: A Potential Role for Ozone? Agricultural Outlook, USDA. USA: 1998.
11. Hecer, Canan & al., The Effects of Ozone and Chlorine Applications on Microbiological Quality of Chickens During Processing. Turkey: J. Biol. Environ. SCI. 2007.
12. Normex, Ozone enriched water for disinfection. WWW-dokumentti. Luettavissa: <http://www.normex.no/index.html>. Päivitys ei tiedossa. Luettu 1.6.2009.
13. Parish, M.E., Methods to Reduce/ Eliminate Pathogens from Fresh and Fresh-Cut Produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, vol. 2. USA: 2003.
14. Guzel- Seydim, Zeynep & al., Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. USA: Food Microbiology 21. 2004.
15. Kansainväliset kemikaalikortit, Otsonin kemikaalikortti. WWW-dokumentti. Luettavissa: <http://kappa.ttl.fi/kemikaalikortit/khtml/nfin0068.htm>. Ei päivitystietoa. Luettu 18.12.2009.
16. Tuorila, Hely & al., Elintarvikkeet aistien puntarissa. Helsinki: Yliopistopaino. 1993.
17. Niemi, Veli-Mikko, Ruokaturvallisuuden käsikirja. Helsinki: Art House Oy. 2004.
18. Korkeala, Hannu, Elintarvikehygieniä, ympäristöhygieniä, elintarvike- ja ympäristötoksikologia. Helsinki: WSOY Oppimateriaalit. 2007.
19. Jay, James M., Modern Food Microbiology. USA: An Aspen Publication. 2000.

20. Ryynänen, Tapani & al., Lihateollisuuden ammattioppi 2. Helsinki: Opetushallitus. 1992.
21. Salkinoja- Salonen, Mirja, Mikrobiologian perusteita. Jyväskylä: Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. 2002.
22. Elintarviketurvallisuusvirasto, Elintarviketietoa. WWW-dokumentti. Luettavissa: <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/elintarviketietoa/>. Päivitys ei tiedossa. Luettu 2.1.2010.
23. Maa- ja metsätalousministeriön asetus eläimistä saatavien elintarvikkeiden elintarvikehygieniasta 37/EEO/2006. WWW-dokumentti.  
<http://wwwb.mmm.fi/el/laki/i/asetus%20eläimistä%20saatavien%20elintarvikkeiden%20jne.pdf>. Ei päivitystietoa. Luettu 25.1.2010.
24. Kärkkäinen, Tarja, Purtavaa puhtaasti, Mikrobin kasvuun voidaan vaikuttaa. WWW-dokumentti. Luettavissa:  
<http://www.edu.fi/oppimateriaalit/purtavaapuhtaasti/mikrobit/tyotavat.htm>. Päivitys ei tiedossa. Luettu 28.12.2009.
25. Oulun seudun ympäristövirasto, Suurten yleisötapahdumien ruoantarjoilu 2005–2006. WWW-dokumentti. Luettavissa:  
<http://www.ouka.fi/ymparisto/pdf/Rapo5%202006%20Ruoant%20ulkomyy.pdf>. Päivitetty 2006. Luettu 1.1.2010.
26. Oulun seudun ympäristövirasto, Ruoankuljetusprojekti 2005. WWW-dokumentti. Luettavissa:  
<http://www.ouka.fi/ymparisto/pdf/Raportti%202006.pdf>. Päivitetty 2005. Luettu 1.1.2010.
27. Pönkä, Antti, Ruokamyrkytykset ja elintarvikehygieniä. Jyväskylä: Suomen Ympäristöterveys Oy. 1999.

28. Rahkio, Marjatta & al., Ruokamyrkytyssepidemioiden selvitysopas. Pori: Elintarvike ja Terveyslehti. 2000.
29. Elintarvikevirasto, Opas elintarvikkeiden ja talousveden mikrobiologisista vaaroista. Helsinki: Elintarvikevirasto. 2003.
30. Tuominen P, Hielm S, Aarnisalo K, Raaska L, Majjala R. Trapping the food safety performance of a small or medium-sized food company using a risk-based model. The HYGRAM® system. Food Control, 2003, 109: 573–578. WWW-dokumentti. Saatavissa: [http://www.evira.fi/portal/fi/elintauti-ja\\_elintarviketutkimus/riskinarviointi/hygram/](http://www.evira.fi/portal/fi/elintauti-ja_elintarviketutkimus/riskinarviointi/hygram/). Päivitys ei tiedossa. Luettu: 20.1.2010.
31. Elintarviketurvallisuusvirasto, Ruokamyrkytyksiä aiheuttavat mikrobit, *Staphylococcus aureus*. WWW-dokumentti. Luettavissa: [http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia\\_aiheuttavia\\_bakteereja/stafylococcus\\_aureus/](http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_bakteereja/stafylococcus_aureus/). Päivitys ei tiedossa. Luettu 6.1.2010.
32. Keto Riikka & Rahkio Marjatta, Kirjallisuuskatsaus listeriasta. WWW-dokumentti. Luettavissa: [http://www.palvelu.fi/evi/files/55\\_519\\_100.pdf](http://www.palvelu.fi/evi/files/55_519_100.pdf). Päivitetty 1998. Luettu 4.1.2010.
33. Wirtanen, Gun, Laitehygieniä elintarviketeollisuudessa. Hygieniaongelmien ja *Listeria monocytogenes* hallintakeinot. Espoo: VTT Biotekniikka. 2002.
34. Elintarviketurvallisuusvirasto, Ruokamyrkytyksiä aiheuttavat mikrobit, *Listeria monocytogenes*. WWW-dokumentti. Luettavissa: [http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet\\_ja\\_terveys/elaintaudit/listeriat](http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet_ja_terveys/elaintaudit/listeriat). Ei päivitystietoa. Luettu 5.1.2010.
35. Häikiö, Irma, Elintarvikemikrobiologia. Porvoo: WS Bookwell Oy. 2003

36. Elintarviketurvallisuusvirasto, Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaatimukset, komission asetuksen (EY) No 2073/2005 soveltaminen, Ohje elintarvikealan toimijoille 10501/1. WWW-dokumentti. Luettavissa: <http://www.evira.fi/uploads/WebShopFiles/1243849246290.pdf>. Ei päivitystietoa. Luettu 20.1.2010.
37. Komission asetus (EY) elintarvikkeiden mikrobiologisista vaatimuksista 2073/2005. WWW-dokumentti. [http://wwwb.mmm.fi/el/laki/i/EY\\_2073\\_2005\\_su.pdf](http://wwwb.mmm.fi/el/laki/i/EY_2073_2005_su.pdf). Ei päivitystietoa. Luettu 25.1.2010.
38. Elintarviketeollisuusliitto & Päivittäistavarakauppa ry., Helposti pilaantuvien pakattujen lihavalmisteiden ja valmisruokien säilyvyysmerkinnät ja säilyvyyden varmistaminen. WWW-dokumentti. Luettavissa: [http://www.etl.fi/www/fi/julkaisut/Julkaisut/Lihavalmisteet\\_ja\\_valmisruoat\\_suositus.pdf](http://www.etl.fi/www/fi/julkaisut/Julkaisut/Lihavalmisteet_ja_valmisruoat_suositus.pdf). Päivitetty 14.10.2009. Luettu 22.1.2010.
39. Marjatta Rahkio & al., Pintahygieniaopas. Pori: Elintarvike ja Terveys-lehti. 2006.
40. Gynther, Nina 2009. Kuvamateriaalia otsonointikokeista. Järvi- Suomen Portti.
41. Schiwa slicer 2001. Ohjekirja.
42. Tuotetiedot 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate- kasvatusalusta. WWW-dokumentti. Luettavissa: <http://www.labema.fi/~mGGex0000001/?Y999=PIF&Y104=C6406>. Ei päivitystietoja. Luettu 15.1.2010.
43. 3 M, Petrifilm, Aerobic Count Plate. USA: 3 M Microbiology. 2008.

## LIITE 1

## Otsonigeneraattorin käyttöohjeet

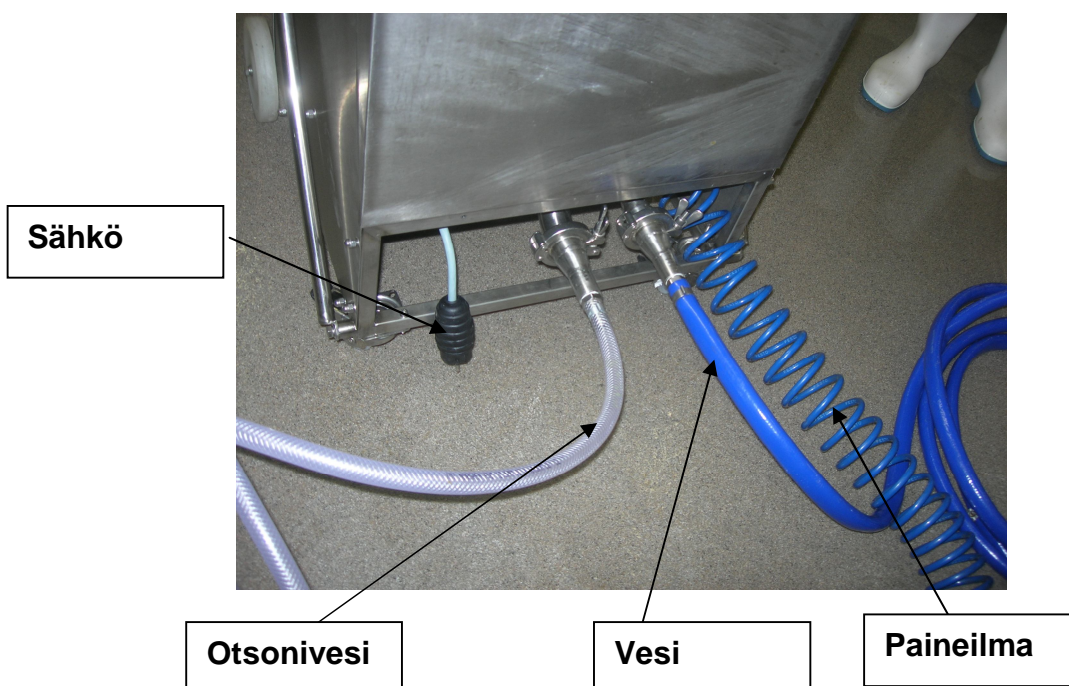
### ST4118MWG

Laitetoimittaja Gjema Oy/ Valmistaja Steritrox Ltd

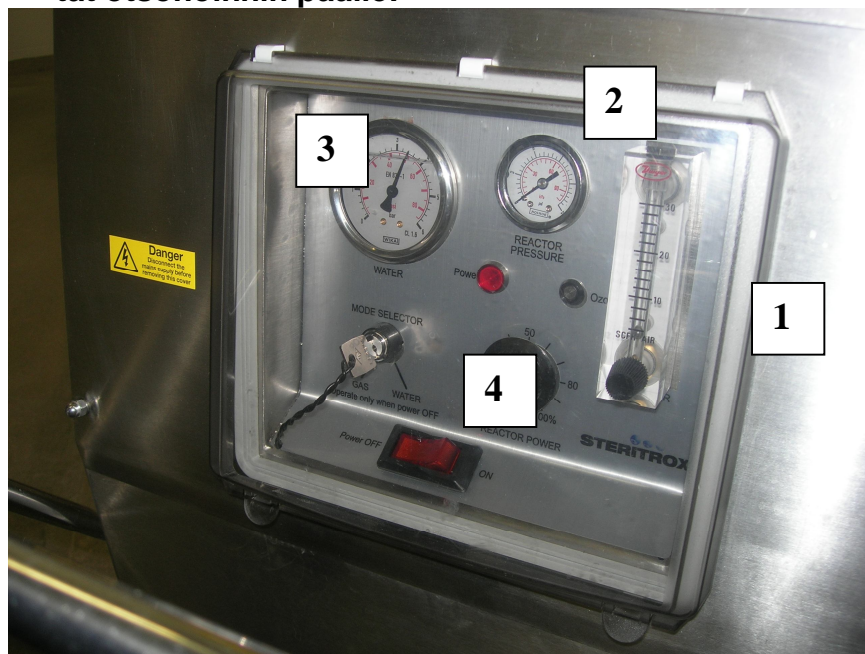
[www.steritrox.co.uk](http://www.steritrox.co.uk)

### Käynnistys

1. Avaa vesihana
  - odota, että vesi alkaa tulla otsonigeneraattorin suuttimesta
2. Paineilma päälle
3. Kytke sähkö (tarvitaan jatkojohto)



4. Virta päälle (Power on), tarkista seuraavat lukemat ennen kuin laitat otsonoinnin päälle:



1. Reactor flow –lukema 10
2. Reactor pressure –lukema 3-9
3. Water-lukema 2,5-3,5
4. Otsonointi päälle –Reactor power –
  - odota, että sininen valo syttyy
  - säätimellä (0 -100 %) voi säätää otsonipitoisuutta vedessä
  - esimerkkejä pitoisuuksista puhtaassa vedessä:
    - 100 %: 6,8 ppm
    - 80 %: 5,5 ppm
    - 50 %: 3,5 ppm

## Sammutus

1. Reactor power-säädin (4-kohta kuvassa) nolnaan (0 %) -> sininen valo sammuu
2. Virta pois päältä (Power off)
3. Anna veden ja paineilman vielä virrata n. 2 min. ja huuhdella laitteisto ja letkut
4. Sulje vesihana ja paineilma

**HUOM!** Jos joudut irrottamaan aktiivihiilisuodattimen laitteistosta esim. kuljetuksen yhteydessä, niin pidä suodatinyksikkö mahdollisimman pystyasennossa (korkeintaan 30 ° kallistus sallittu).



Helsingin yliopisto/Ruralia-instituutti Marjo Särkkä-Tirkkonen, p. 044–  
5906849